

Université de Montréal

**La lambda-cyhalothrine comme pesticide privilégié en milieu agricole :
Étude la toxicocinétique des biomarqueurs
pour le suivi de l'exposition chez des volontaires**

**Par
Rania Khemiri**

**Département de santé environnementale et santé au travail,
École de santé publique**

**Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de maîtrise (M. SC.)
en santé environnementale et santé au travail
option recherche**

Avril 2017

© Rania Khemiri, 2017

RÉSUMÉ

La lambda-cyhalothrine est un pesticide pyréthriinoïde largement utilisé en agriculture. L'évaluation de l'exposition peut être réalisée à partir de la mesure de métabolites urinaires clés. Pour une utilisation adéquate des données de biosurveillance, il est par contre nécessaire d'obtenir de l'information sur la toxicocinétique de ces biomarqueurs d'exposition clés. Une étude clinique a donc été menée pour documenter les profils temporels plasmatiques et urinaires de métabolites majeurs de la lambda-cyhalothrine. Sept volontaires ont ingéré 0,025 mg/kg de lambda-cyhalothrine. Des prélèvements sanguins ont été effectués avant dosage puis à des heures fixes sur une période de 72 h suivant l'ingestion; des mictions urinaires complètes ont aussi été collectées avant exposition puis à intervalles préétablis durant les 84-h après dosage. L'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) et l'acide cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2,-diméthylcyclopropanecarboxylique (CFMP) ont été mesurés dans le plasma et l'urine. Les concentrations plasmatiques de CFMP et de 3-PBA ont augmenté rapidement après l'ingestion, avec des valeurs maximales à 3.1 et 4 h pour les deux métabolites. La phase d'élimination plasmatique subséquente a montré une attrition rapide avec des demi-vies ($t_{1/2}$) moyennes de ≈ 5.3 et 6.4 h pour le CFMP et le 3-PBA, respectivement. Les taux d'excrétion urinaires ont montré un profil similaire à celui des concentrations plasmatiques avec des $t_{1/2}$ d'élimination moyennes correspondantes de ≈ 4.2 et 5.9 h. Durant les 84 h après traitement, en moyenne 21 % de la dose ingérée de lambda-cyhalothrine étaient excrétés dans l'urine sous forme de CFMP comparativement à 30 % sous forme de 3-PBA. Les résultats confirment que le CFMP et 3-PBA sont des métabolites majeurs de ce pyréthriinoïde et que ces deux métabolites présentent des profils cinétiques similaires avec de courtes demi-vies. Ils apparaissent donc comme deux biomarqueurs d'exposition utiles pour évaluer l'exposition à la lambda-cyhalothrine chez l'humain.

Mots clés : Pyréthriinoïde ; lambda-cyhalothrine ; biomarqueurs d'exposition ; acide cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylique (CFMP); acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA); exposition orale; volontaires.

ABSTRACT

Lambda-cyhalothrin is a pyrethroid pesticide largely used in agriculture. Exposure assessment can be performed by measuring key urinary metabolites. For a proper use of biomonitoring data, it is however important to gain information on the toxicokinetics of these key biomarkers of exposure. A human volunteer study was performed to document the plasma and urinary time courses of major lambda-cyhalothrin metabolites. Seven volunteers ingested 0.025 mg kg^{-1} body weight of lambda-cyhalothrin. Blood samples were withdrawn prior to dosing and at fixed time periods over the 72 h-period following ingestion and complete urine voids were collected pre-exposure and at pre-established intervals over 84 h post-dosing. The *cis*-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (CFMP) and 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) metabolites were quantified in these samples. Plasma concentrations of CFMP and 3-PBA increased rapidly after ingestion, with average peak values at 3.1 and 4.0 h post-dosing, respectively; subsequent elimination phase showed a rapid decay with a mean half-life ($t_{1/2}$) of ≈ 5.3 and 6.4 h for CFMP and 3-PBA, respectively. Urinary rate time courses displayed a profile similar to the plasma concentration-time curves with corresponding mean $t_{1/2}$ of ≈ 4.2 and 5.9 h. In the 84-h period post-treatment, on average 21% of lambda-cyhalothrin dose were excreted in urine as CFMP as compared to 30% as 3-PBA. Overall, CFMP and 3-PBA metabolites were confirmed to be major metabolites of lambda-cyhalothrin and exhibited similar kinetics with short half-lives; they thus both appear as useful biomarkers of exposure to lambda-cyhalothrin in humans.

Keywords: Pyrethroid; lambda-cyhalothrin; biomarkers of exposure; *cis*-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (CFMP); 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA); oral exposure; volunteers.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	1
Abstract.....	2
Table des matières.....	3
Liste des tableaux	6
Liste des figures	7
Liste des sigles et abréviations	8
Remerciements.....	9
I. Introduction	2
1. Les pyréthri-noïdes	2
1.1. Origine	2
1.2. Sources d'exposition dans la population générale.....	2
1.3. Toxicité générale.....	3
2. La lambda-cyhalothrine, un des pyréthri-noïdes les plus utilisés.....	5
2.1. Propriétés.....	5
2.2. Toxicité de la lambda-cyhalothrine.....	5
2.2.1. Neurotoxicité.....	6
2.2.2. Les effets sur la consommation d'aliments et de l'eau.....	7
2.2.3. Stress oxydant	7
2.2.4. Les effets sanguins	8
2.2.5. Effets rénaux	8
2.2.6. Toxicité hépatique.....	9
2.2.7. Immunotoxicité	9
2.2.8. Effets endocriniens.....	10
2.3. Toxicocinétique des pyréthri-noïdes et en particulier de la lambda-cyhalothrine	10
2.3.1. Absorption.....	11
2.3.2. Distribution.....	12

2.3.3.	Métabolisme	12
2.3.4.	Excrétion.....	13
2.4.	La surveillance biologique de l'exposition aux pyréthri-noïdes et en particulier à la lambda-cyhalothrine	14
2.4.1.	Les biomarqueurs d'exposition à la lambda-cyhalothrine	17
3.	Problématique	18
4.	Objectif	19
II.	Méthodologie.....	22
1.	Description de l'étude cinétique contrôlée chez les volontaires.....	22
1.1.	Participants	22
1.2.	Dosage et échantillonnage	22
1.3.	Traitement et analyse des échantillons biologiques	24
1.3.1.	Produits commerciaux utilisés	24
1.3.2.	Traitement des échantillons plasmatiques et urinaires	25
1.3.3.	Quantification des biomarqueurs d'exposition.....	26
1.4.	Détermination des niveaux biologiques	27
1.5.	Analyse toxicocinétique	27
1.6.	Considérations éthiques.....	29
III.	Article	31
1.	Abstract	34
2.	Introduction	35
3.	Materials and methods.....	37
3.1.	Study design	37
3.2.	Subjects.....	37
3.3.	Dosing	38
3.4.	Sampling for oral exposure.....	38
3.5.	Sample treatment and analysis	39
3.5.1.	<i>Chemicals and reagents</i>	<i>39</i>
3.5.2.	<i>Blood and urine sample treatment.....</i>	<i>40</i>

3.5.3.	<i>UHPLC/Q-ToF MS analysis</i>	40
3.6.	Toxicokinetics analysis	42
4.	Results	44
4.1.	Time courses of CFMP and 3-PBA in plasma	44
4.2.	Time courses of CFMP and 3-PBA in urine	44
4.3.	Comparison of plasma and urinary time courses	45
5.	Discussion	46
8.	References	49
IV.	Discussion générale	60
1.	Évaluation de l’approche utilisée et connaissances scientifiques nouvelles	60
2.	Comparaison des données avec d’autres études	60
3.	Contribution de cette étude pour la validation de biomarqueurs d’exposition à la lambda-cyhalothrine chez l’humain	62
4.	Perspectives de recherche	63
4.1.	Étude de l’exposition par voie cutanée	63
4.2.	Biosurveillance chez les travailleurs agricoles	63
4.3.	Modélisation des données toxicocinétiques	64
V.	Conclusion	65
VI.	Références	66

LISTE DES TABLEAUX

Table 1 Mean (\pm SD) time to peak levels, first-order apparent absorption and elimination half-lives and excretion fraction derived from individual time courses of CFMP and 3-PBA in plasma and urine of volunteers following ingestion of 0.025 mg kg ⁻¹ bw of lambda-cyhalothrin (n = 7).	53
Table 2 Toxicokinetic parameters calculated from plasma concentration-time profiles of CFMP and 3-PBA in volunteers following ingestion of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 7).	54

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Structure de la lambda-cyhalothrine et ses métabolites.....	18
---	----

Articles

Figure 1. Time courses of CFMP and 3-PBA concentrations in the plasma of volunteers (pmol/ml/kg bw) following a single oral administration of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (mean \pm SD) (n = 7) (A) or 0.0025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 1) (B).	57
---	----

Figure 2. Time courses of CFMP and 3-PBA excretion rate in the urine (pmol/h/kg bw) of volunteers following a single oral administration of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (mean \pm SD) (n = 7) (A) or 0.0025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 1) (B).....	58
---	----

Figure 3. Time courses of CFMP and 3-PBA cumulative excretion (as a molar % of administered dose) in the urine of volunteers following a single oral administration of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (mean \pm SD) (n = 7) (A) or 0.0025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 1) (B).	59
--	----

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

µmol : Micromole

3-PBA : Acide 3-phénoxybenzoïque

CFMP : Acide cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylique

4-OH-3-PBA : L'acide 3-(4'-hydroxy)-phénoxybenzoïque

cis-DCCA : Acide cis-3-(2,2-dichlorovinyle)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique

bw : Body weight

créat. : Créatinine

DJA : Dose journalière acceptable (ADI en anglais)

DRf : Dose de référence (RfD en anglais)

ECMS : Enquête Canadienne sur les Mesures de la Santé (CHMS en anglais)

AUC : Aire sous la courbe

AUMC : Aire sous la courbe du premier moment

DL50 : Dose létale 50, équivalente à la dose causant la mort de 50 % des animaux.

h : Heure

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

SOD : Superoxyde dismutase

CAT : Catalase

GPx : Glutathion peroxydase

pc : Poids corporel

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, j'aimerais rendre hommage à tous ceux qui loin ou près m'ont apporté leurs soutiens et leurs encouragements pour l'élaboration de ce projet de recherche.

Tout d'abord, je tiens à remercier vivement ma directrice Michèle Bouchard, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche, pour sa gentillesse ou son écoute, pour son soutien, son appui et ses précieux conseils scientifiques tout au long de ma maîtrise. J'en suis très reconnaissante.

Également, je remercie Jonathan Côté, pour sa disponibilité, son aide et l'effort durant l'étude clinique et pour la compilation des données. Mes remerciements s'adressent aussi Ross Thuot et Marc Mantha qui m'ont aidé à traiter tous les échantillons ainsi pour leurs conseils pour le fonctionnement du Q-TOF.

Un grand merci à mon amie Sandra Andriamasinoro pour sa gentillesse, son appui et ses encouragements. Tu étais toujours là toi et la petite Hannah pour m'encourager.

Un grand signe de gratitude à tous mes ami(e)s et collègues de l'équipe de recherche Denis Dième, Michel Bteich, qui ont été toujours là pour apporter leur aide et expérience de recherche. Merci aussi à Honesty Tohon, Kevin Lajoie, Chuk Odenigbo, Marc Boussou, Axelle Marchand, Jessie Ménard et Sarah Piette pour leur support et la bonne ambiance qu'on a partagée ensemble.

Je tiens également à remercier l'institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité de travail (IRSST) pour avoir financé ce projet et de m'avoir octroyé une bourse de recherche ainsi les volontaires pour leur participation et implication durant toute l'étude.

Finalement, je remercie ma famille : mon mari qui m'a supporté et qui a été toujours à mes côtés tout le long de ma maîtrise, mes parents et mes sœurs même si la grande distance nous sépare ils m'ont encouragé à chaque moment.

Grand merci à tous

Introduction

I. INTRODUCTION

1. LES PYRÉTHRINOÏDES

1.1. Origine

Les pyréthrinaïdes sont des insecticides largement utilisés dans la production agricole partout dans le monde. Ces insecticides lipophiles sont appliqués en remplacement des organophosphorés, en raison de leur plus faible volatilité et leur inactivation métabolique rapide (Barr et al., 2010; Elliott, 1976; Morgan et al., 2016a).

Les insecticides pyréthrinaïdes sont des analogues des pyréthrines naturelles et ont été développés en tant que nouvelle génération des produits phytosanitaires. Ils sont répartis en deux groupes, type I et II, selon l'absence (type I) ou la présence (type II) d'un groupement nitrile (composé d'un atome de carbone et d'un atome d'azote) en position C α de la molécule. Diverses formes synthétiques de pyréthrinaïdes sont utilisées pour la lutte contre les insectes, telles que la lambda-cyhalothrine et la cyperméthrine, qui sont des pyréthrinaïdes de type II (Muranli, 2013). Plus de 20 pyréthrinaïdes sont homologués pour des fins d'application en milieux résidentiels ou agricoles selon l'Agence américaine de protection de l'environnement (US Environmental Protection Agency (US EPA)) (Morgan et al., 2016b).

1.2. Sources d'exposition dans la population générale

L'homme peut être exposé aux pyréthrinaïdes par plusieurs voies à cause de leur large spectre d'utilisation ces dernières années. Plusieurs études menées aux États-Unis ont rapporté une détection d'un certain nombre de pyréthrinaïdes (la cyfluthrine, la cyperméthrine, la cyhalothrine et la dèltaméthrine) dans les poussières, les aliments et dans des environnements résidentiels (Julien et al., 2008; Melnyk et al., 2012; Morgan et al., 2007; Riederer et al., 2010; Starr et al., 2008; Trunnelle et al., 2014). Néanmoins,

l'ingestion de résidus de pesticides par l'alimentation est probablement la principale voie d'exposition aux pyréthrinoïdes dans la population générale (Barr et al., 2010; Riederer et al., 2008). Plusieurs études ont montré la présence des résidus de pesticides pyréthrinoïdes dans les aliments consommés. Il a été estimé que les niveaux de résidus étaient plus importants dans les aliments que dans les boissons (Li et al., 2016; Morgan et al., 2007). L'exposition par voie cutanée et par inhalation devient importante pour les travailleurs (Barr et al., 2010; Fortin et al., 2009; Riederer et al., 2010; Saillenfait et al., 2015).

Les informations qui découlent de ces études ont soulevé des inquiétudes, puisque des produits de dégradation de pyréthrinoïdes ont été mesurés dans des échantillons biologiques des populations étudiées, principalement l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA). Il s'agit de la molécule la plus retrouvée dans les échantillons biologiques d'une population californienne, entre 2010 et 2011 (Morgan et al., 2016a).

1.3. Toxicité générale

Les insecticides pyréthrinoïdes agissent principalement sur le système nerveux des insectes cibles (Field et al., 2017) par la modification de la transmission sélective des canaux sodiques voltages dépendants (Kadala et al., 2014). Cela mène à un état d'hyperexcitabilité cellulaire (Sinha et al., 2006). La perturbation des canaux sodiques voltage-dépendants et des canaux calciques voltage-dépendants provoque la dépolarisation des membranes nerveuses et la libération de neurotoxines (Kadala et al., 2014; Saillenfait et al., 2015; Sankar et al., 2012; Wang et Wang, 2003).

En outre, il a aussi été montré que certains pyréthrinoïdes bloquent les récepteurs GABA (Soderlund et al., 2002), un inhibiteur de neurotransmetteurs. Cette famille d'insecticides prolonge d'autant plus l'influx nerveux en empêchant la boucle de rétroaction inhibitrice de neurotransmetteurs. D'autres mécanismes d'action des pyréthrinoïdes, y compris leurs effets sur les canaux chlorure et des récepteurs GABA, ont également été proposés (Soderlund et al., 2002).

Sinha et al. (2006) ont observé des déficiences dans la mémoire, la cognition et une perte de neurones hippocampiques suite à une exposition aux pyréthriinoïdes chez des rats. Selon une étude *in vivo*, sur les cellules cancéreuses, les pyréthriinoïdes ont également induit des déficits d'apprentissage et de la mémoire spatiale avec une diminution des protéines synaptiques, y compris, le N-méthyl-D, un récepteur de l'aspartate (NMDAR1) (Chen et al., 2002).

Les données provenant d'études animales indiquent aussi que l'exposition orale à des doses élevées induit des altérations neurocomportementales (Saillenfait et al., 2015). D'autres études chez le rat exposé par voie orale ont documenté des effets sur les fonctions motrices, sensorielles, neuromusculaires et thermorégulatrices (Wolansky et Tornero-Velez, 2013). En effet, Hughes et al. (2016) ont rapporté des effets neurocomportementaux chez des rats exposés par voie orale aiguë à un mélange de pyréthriinoïdes contenant de la cyfluthrine, de la cyperméthrine, de la deltaméthrine, de l'esfenvalerate et de la *cis/trans*-perméthrine. Ce mélange était majoritairement composé de perméthrine (31 %) et il a induit une diminution de l'activité motrice chez les rats exposés (Hughes et al., 2016).

Les symptômes cliniques de neurotoxicité associés à une intoxication aiguë aux pyréthriinoïdes sont divisés, selon la littérature, en trois groupes : 1) ceux qui induisent des tremblements sur le corps en entier (syndrome T pour « tremor ») ; 2) ceux qui provoquent une salivation (syndrome GS) ; 3) ceux qui induisent un syndrome mixte de deux (syndrome TS) (Soderlund et al., 2002; Verschoyle et Barnes, 1972).

En outre, des études ont documenté l'effet des insecticides pyréthriinoïdes sur les paramètres hématologiques chez les rats albinos exposés par voie orale à la cyperméthrine. Il a été rapporté que cet insecticide pyréthriinoïde du groupe II induit une diminution du nombre des globules rouges par la destruction de la structure érythrocytaire suivie d'une diminution de la concentration d'hémoglobine (Pande et al., 2014).

Par ailleurs, des études de types épidémiologiques ont relié l'exposition professionnelle aux pyréthriinoïdes de synthèse à des effets neurologiques et pulmonaires

(Hudson et al., 2014). Cela a été observé chez des travailleurs agricoles exposés aux pyréthriinoïdes lors de manipulations des produits chimiques. Ces effets peuvent résulter d'une mauvaise évacuation des émanations des contenants de pesticides, une ventilation inadéquate dans les lieux de stockage ou de manipulation lors de la préparation de la solution à pulvériser, la dérive à partir du site d'application, les déversements et les éclaboussures (Hudson et al., 2014; Iyyadurai et al., 2014).

2. LA LAMBDA-CYHALOTHRINE, UN DES PYRÉTHRINOÏDES LES PLUS UTILISÉS

2.1. Propriétés

La lambda-cyhalothrine est un insecticide pyréthriinoïde de synthèse de type II, dont les utilisations en agriculture sont de plus en plus importantes (Ansari et al., 2012; Fetoui et al., 2009; Iyyadurai et al., 2014). Cette substance active est constituée de deux des quatre formes énantiomères de la cyhalothrine. Il s'agit d'une molécule à large spectre contre les insectes ravageurs des cultures (Fetoui et al., 2009).

Il a été déterminé, à partir d'études chroniques menées avec la cyhalothrine et la lambda-cyhalothrine, que la pharmacocinétique, le métabolisme et la toxicité de la lambda-cyhalothrine et la cyhalothrine sont similaires (Anadon et al., 2006). En effet, ces deux composés ont la même structure chimique, mais ils diffèrent seulement par la composition des stéréo-isomères présents. Ils partagent ainsi les mêmes propriétés physicochimiques et biologiques (Moser et al., 2016)

2.2. Toxicité de la lambda-cyhalothrine

Comme les autres pyréthriinoïdes, la lambda-cyhalothrine est une molécule à potentiel neurotoxique non seulement pour les insectes, mais aussi pour les mammifères (Anadon et al., 2006; Ansari et al., 2012; Aouey et al., 2017; Fetoui et al., 2009). Cependant, cette substance active est plus toxique chez les insectes que chez les humains, étant donné la différence inter-espèces dans la sensibilité des canaux sodiques et des différences de masse et température corporelle (Bradberry et al., 2005).

La toxicité de la lambda cyhalothrine chez les animaux a été étudiée abondamment ces dernières années, parce que les sujets exposés à ces insecticides ont montré des changements au niveau du fonctionnement du cerveau impliquant les systèmes dopaminergiques, cholinergiques et sérotoninergiques (Hossain et al., 2005).

2.2.1. Neurotoxicité

L'effet neurologique de la lambda-cyhalothrine a été étudié chez des rats mâles Long Evans à partir de tests de l'activité motrice. Wolansky et al. (2006) ont étudié l'effet d'un mélange d'insecticide de type I et II afin de caractériser une relation dose- réponse de l'apparition des effets reliés à l'activité motrice. Il a aussi été documenté, qu'une dose de 3-10 mg/kg de lambda-cyhalothrine diminuait l'activité motrice de rats exposés de 50 – 60 % (Wolansky et al., 2006). La lambda-cyhalothrine ayant le groupe α -cyano, présente les mêmes effets comportementaux que ceux des pyréthriinoïdes de type II, y compris de la salivation, des tremblements, ainsi que la diminution de l'activité motrice (Righi et Palermo-Neto, 2003; Weiner et al., 2009; Wolansky et al., 2006).

Plusieurs études ont été menées chez différentes espèces animales. En particulier, Weiner et al. (2009) ont documenté la toxicité aiguë d'un mélange de douze produits commerciaux de la famille des pyréthriinoïdes dont la lambda-cyhalothrine, suite à une exposition orale aiguë chez des rats Sprague-Dawley. Les rats ayant été exposés à une dose de 10-20 mg/kg de lambda-cyhalothrine présentaient des signes de salivation, d'altération de la fonction motrice, de la coordination et des tremblements (Weiner et al., 2009). De plus, l'étude de Moser et al. (2016) a confirmé aussi l'observation de tremblements chez

les rats exposés par voie orale à des doses élevées de chaque isomère de la cyhalothrine, soit 6 mg/kg pc pour la lambda-cyhalothrine et 3 mg/kg pc pour la gamma-cyhalothrine. La salivation a été observée chez les groupes de rats exposés à des doses inférieures à 3mg/kg pc. Par ailleurs, cette étude a montré une corrélation entre les concentrations de la lambda-cyhalothrine dans le plasma et les tissus et la diminution de l'activité motrice (Moser et al., 2016). Cependant, des études récentes ont montré un effet inverse des pyréthriinoïdes sur le neurodéveloppement. En plus des effets neurotrophiques, il a été rapporté que les pyréthriinoïdes augmentaient la densité et la longueur de la colonne vertébrale.

2.2.2. Les effets sur la consommation d'aliments et de l'eau

Il a été observé que l'exposition par ingestion à la lambda-cyhalothrine chez des rats induisait une nette diminution de la consommation alimentaire, de la consommation d'eau et du poids corporel. Des résultats similaires ont été obtenus chez les animaux exposés à différents composés pyréthriinoïdes comme la deltaméthrine et le fenvalérate (Kilian et al., 2007; Prasamthi et al., 2005).

2.2.3. Stress oxydant

La lambda cyhalothrine, comme la majorité des pyréthriinoïdes, est une molécule hydrophobe. Cela suggère que son action sur les membranes biologiques pourrait être liée avec des altérations des protéines et des phospholipides (Michelangeli et al., 1990). Des études récentes indiquent l'implication du stress oxydatif comme mécanisme de toxicité des pyréthriinoïdes de synthèse de type II dans divers tissus de rats (Fetoui et al., 2008; Sankar et al., 2012). En effet, la lambda-cyhalothrine semble s'accumuler dans les membranes biologiques et cause des dommages oxydatifs (Michelangeli et al., 1990). De plus, des indicateurs spécifiques de ce type de dommage ont été rapportés, tels que l'augmentation des concentrations des espèces réactives oxygénées au niveau du foie ainsi que la peroxydation des lipides. Ces effets ont été observés 60 jours après une exposition quotidienne répétée chez des rats (Aouey et al., 2017). Cette étude suggère que la lambda-

cyhalothrine ou ses métabolites induisent des dommages cytotoxiques au niveau des hépatocytes. De plus, ces résultats ont montré une corrélation significative entre les niveaux de métabolites de la lambda-cyhalothrine et d'espèces réactives oxygénées ainsi que de la peroxydation des lipides chez les rats exposés.

2.2.4. Les effets sanguins

Par ailleurs, les recherches de Fetoui et al (2008) ont montré des modifications des paramètres hématologiques chez rats exposés à la lambda-cyhalothrine (une diminution des hématies, avec un développement d'une anémie). Ces résultats confirment ceux d'études antérieures sur des rats exposés à d'autres pyréthrinoïdes, tels que l'alpha-cyperméthrine (Manna et al., 2004). Dans une étude menée chez des lapins, il a également été rapporté que la lambda-cyhalothrine peut induire une diminution du compte de globules rouges et blancs et de la concentration d'hémoglobine et de lymphocytes dans le sang (Basir et al., 2011).

2.2.5. Effets rénaux

Les dommages oxydatifs aux reins qui se manifestent par la formation d'espèces radicalaires superoxyde azotées, telles que le peroxydinitrite, le monoxyde d'azote et le radical hydroxyle (OH)), et sont générés par les produits de dégradation de la lambda-cyhalothrine (Kale et al., 1999; OMS, 1990). Ces radicaux attaquent la membrane cellulaire et la déstabilisent à la suite de la peroxydation lipidique (Stajn et al., 1997) L'étude de Fetoui et al. (2010) a d'ailleurs montré une diminution significative de l'activité enzymatique (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réductase et glutathion S-transférase) au niveau des tissus rénaux, ce qui indique une atteinte rénale. Des études histopathologiques ont aussi montré que la lambda-cyhalothrine induisait de multiples foyers d'hémorragie, une dilatation tubulaire au niveau du tubule proximal, une desquamation des cellules tubulaires, une infiltration de cellules inflammatoires et un gonflement des tubules dans le rein (Fortin et al., 2009).

2.2.6. Toxicité hépatique

En plus des effets rénaux, plusieurs études ont montré la relation entre l'exposition à des insecticides pyréthrinoïdes et les dommages au niveau du foie, étant donné que ce dernier est le site de métabolisme de tous les pesticides (Anadon et al., 2013; Giray et al., 2001). On enregistre au niveau de ce tissu une concentration importante de métabolites des pesticides (Rickard et Brodie, 1985). Plusieurs enzymes sont impliquées dans le processus de défense des cellules contre les radicaux libres, telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx) et la peroxydase (Karihtala et Soini, 2007). L'étude d'Aouey et al. (2016) a montré que l'accumulation, dans les tissus hépatiques, des métabolites de la lambda-cyhalothrine (CFMP et 3 -PBA) était fortement corrélée aux dommages au niveau des hépatocytes (Ihara et al., 2012; Ihara et al., 2009; Matsuya et al., 2012; Takasaki et al., 2013).

2.2.7. Immunotoxicité

Des études animales ont rapporté des effets immunologiques de la lambda-cyhalothrine chez des rats albinos Wistar exposés à une dose de 10 mg/kg pc. Plusieurs tests ont été effectués pour documenter l'immunotoxicité, tels que les tests d'héماغlutination et l'estimation de la globuline. Des corrélations significatives ($p < 0.05$) ont été obtenues entre l'exposition à la lambda-cyhalothrine et l'inhibition des concentrations de protéines sériques, telles que l'hémolysine et la gamma-globuline (Bhoopendra et Nitesh, 2014).

L'expérience *in vitro* de Muranli (2013) a également montré que la lambda-cyhalothrine et l'alpha-cyperméthrine causaient des effets cytotoxiques sur des cultures humaines de lymphocytes. Les résultats montrent des changements des taux sériques de lymphocytes ainsi qu'une apoptose significative à des concentrations de 15 et 30 μM . Une diminution de la phagocytose par les macrophages a aussi été observée chez des rats

exposés à trois doses de cyhalothrine (0,6, 1 et 3 mg/kg/jour) durant 7 jours (Zhang et al., 2010).

2.2.8. Effets endocriniens

Des résultats ont montré des effets toxiques sur le système immunitaire, y compris les maladies auto-immunes, des allergies et des défauts de régulations immunitaires (Chalubinski et Kowalski, 2006). Certains pyréthriinoïdes de synthèse peuvent induire un dysfonctionnement de l'hormone thyroïdienne, de la testostérone, et de la régulation des androgènes (Akhtar et al., 1996). En ce qui concerne la lambda-cyhalothrine spécifiquement, il a été démontré qu'elle pourrait agir sur le système endocrinien (Riederer et al., 2008; Righi et Palermo-Neto, 2003).

Des chercheurs ont testé 200 pesticides, dont plusieurs pyréthriinoïdes de synthèses comme la cyhalothrine, pour étudier l'effet antagonisme de deux sous-types d'œstrogènes humains par dosage du gène rapporteur, en utilisant des cellules ovariennes (Kojima et al., 2004). Par ailleurs, Akhtar et al. (1996) ont indiqué que la lambda-cyhalothrine perturbait le système endocrinien des mammifères et diminuait les taux de la triiodothyronine sériques (T3) et de la thyroxine (T4), ainsi que le rapport de T4 à T3 chez le rat. Cependant, les connaissances actuelles sur les activités œstrogéniques de la lambda-cyhalothrine, et en particulier sur les mécanismes d'action, sont peu nombreuses.

2.3. Toxicocinétique des pyréthriinoïdes et en particulier de la lambda-cyhalothrine

Étant donné les effets toxiques des pyréthriinoïdes, dont la lambda-cyhalothrine, il est important de comprendre le devenir de ces contaminants dans l'organisme humain en fonction du temps, c'est-à-dire la toxicocinétique ou absorption, distribution, biotransformation et excrétion. Bien que la toxicocinétique de divers pyréthriinoïdes ait été étudiée chez l'animal et l'humain, très peu d'informations sont disponibles sur la toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine spécifiquement. Les seules données sur la

toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine chez l'humain découlent d'une étude d'exposition professionnelle (Leng et al., 1997). De plus, l'expérience d'Anadon et al. (2006) est une des seules études sur la toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine chez l'animal. La toxicocinétique d'autres pyréthrinoïdes a été étudiée plus en détails chez l'animal et l'humain (Anadon et al., 1991; Côté et al., 2014; Ferland et al., 2015; Fortin et al., 2008; Fortin et al., 2009; Ratelle et al., 2015; Ratelle et al., 2016; Woollen et al., 1992).

2.3.1. Absorption

Les principales voies d'absorption des pesticides pyréthrinoïdes sont la voie digestive, pulmonaire et cutanée. Il semble que les pyréthrinoïdes sont rapidement absorbés par inhalation, tel qu'estimé sur la base de l'apparition des métabolites urinaires 30 minutes après l'exposition (Leng et al., 1997).

L'exposition orale à la cyfluthrine, en conditions contrôlées, montre qu'environ 40 % de la dose a été absorbée chez les volontaires exposés, en se référant aux métabolites urinaires (Leng et al., 1997). Des résultats similaires ont été déduits d'une étude toxicocinétique chez des volontaires exposés à la cyperméthrine, avec des estimations de fraction d'absorption allant de 36 à 63 % (Eadsforth et Baldwin, 1983; Eadsforth et al., 1988; Leng et al., 1997; Woollen et al., 1992).

Par ailleurs, peu d'informations sont disponibles sur l'absorption des pyréthrinoïdes suite à une exposition par voie cutanée. À partir d'une étude de perméabilité cutanée chez le rat male Long-Evans exposé à un mélange de bifenthrine, déltaméthrine et perméthrine radiomarqués dilué dans l'acétone, Hughes et Edwards (2016) ont conclu qu'une faible proportion des pyréthrinoïdes était absorbée par la peau suite à une application locale, soit de 0,5 % dans le cas de perméthrine en se référant aux métabolites urinaires. L'excrétion urinaire des métabolites a persisté 7 à 10 jours après l'exposition cutanée. En utilisant une approche parallèle, il a été déduit que l'absorption des pyréthrinoïdes chez l'homme est inférieure à 10 % de la dose appliquée.

Woollen et al. (1992) ont rapporté que, chez des volontaires (n= 6) exposés à la cyperméthrine (*cis:trans* 56:44) par voie cutanée à une dose équivalente à 31 mg/800 cm² pendant 8 h, environ 1 % de la dose appliquée a été retrouvée sous forme de métabolites dans l'urine durant les 36 h suivant le début de l'application. Ceci suggère que l'absorption cutanée est limitée (Hughes, 2010; Hughes et al., 2016).

Les données de la littérature sur l'exposition des travailleurs agricoles aux pyréthrinoïdes suggèrent une absorption possible lors de leur manipulation ou bien lors d'opérations de traitements dans les champs (Leng et al., 1996). L'estimation de l'absorption chez ces travailleurs s'est faite par la mesure des métabolites urinaires et plasmatiques. En effet, il a été rapporté que l'absorption était en moyenne de 1 µg/kg pc par jour chez un travailleur agricole qui manipule la lambda-cyhalothrine (Naravaneni et Jamil, 2005).

2.3.2. Distribution

L'information disponible dans la littérature scientifique sur la distribution des pyréthrinoïdes chez l'homme est restreinte ; la majorité des données concernent les niveaux dans les compartiments d'excrétion. Anadon (2006) a rapporté que la lambda-cyhalothrine est distribué dans les tissus. Des demi-vies d'élimination moyennes de l'ordre de 35 et 18 h dans l'hypothalamus comparativement à 13 et 12 h dans le foie ont été rapportées après une exposition par voie orale et intraveineuse, respectivement. Compte tenu de cette distribution, il a été déterminé que la concentration la plus élevée de la lambda-cyhalothrine a été enregistré au niveau de l'hypothalamus. De plus, la concentration maximale détectée dans les tissus était plus importante que celle observée dans le plasma. Les seules données cinétiques chez l'humain exposé à la lambda-cyhalothrine découlent d'une étude d'exposition professionnelle réalisée par Leng et al. (1997), qui rapporte une demi-vie moyenne du 3 -PBA de 6,4 heures dans le plasma de travailleurs.

2.3.3. Métabolisme

La biotransformation ou métabolisme réfère aux transformations chimiques et biochimiques des xénobiotiques. Il s'agit d'un processus de défense par lequel l'organisme évite l'accumulation des substances étrangères, en particulier les substances lipophiles, pouvant altérer le fonctionnement biologique naturel (Hutson et Roberts, 1999).

Tous les composés pyréthrinoïdes synthétiques semblent être dégradée par des processus métaboliques similaires chez les mammifères (Ross et al., 2006). En effet, des études montrent que les pyréthrinoïdes sont rapidement métabolisés et excrétés du corps (Kaneko, 2010). Les réactions métaboliques des insecticides pyréthrinoïdes décrites dans les études sont principalement des réactions d'oxydation des fractions alcool et acide, des réactions d'hydrolyse du lien ester et des réactions de conjugaisons (Kaneko, 2010; Mikata et al., 2011). Les pyréthrinoïdes se dégradent rapidement en acides carboxyliques et métabolites hydrolysables qui vont être par la suite excrétés dans l'urine (Kuhn et al., 1999; Margariti et al., 2007).

Des études ont montré que les pyréthrinoïdes sont métabolisés dans le foie suite à une rupture de leur liaison ester (Scollon et al., 2009). Ceci est catalysé par les carboxylestérases humaines (h-CE1 et h-CE2) ou par le cytochrome P450 (Ross et al., 2006). De plus, les recherches de Ross et al. (2006) ont montré que le taux d'hydrolyse des métabolites des pyréthrinoïdes était similaire chez l'homme, la souris et le rat.

Dans le cas de la lambda-cyhalothrine, cette molécule se scinde pour produire trois principaux métabolites, l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), l'acide cis-3-(2-chloro-3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (CFMP) et l'acide 3-(4'-hydrodroxybenzoïque (4-OH-3-PBA) (Kaneko et Miyamoto, 2001).

2.3.4. Excrétion

La majorité des pyréthrinoïdes ont une demi-vie d'élimination rapide, les études animales disponibles montrant qu'une fois absorbé, ils sont rapidement éliminés par les reins (Eadsforth et Baldwin, 1983; Eadsforth et al., 1988) une étude menée chez des

volontaires exposés par voie cutanée en conditions contrôlées, les demi-vies d'élimination de la perméthrine (un pyréthrianoïde de type I) établies à partir des profils d'excrétions urinaires variaient entre 32 et 38 h (Tomalik-Scharte et al., 2005). De plus, Ratelle et al. (2015) ont rapporté des demi-vies d'élimination moyennes de 5 h pour la perméthrine et de 6 h pour la cyperméthrine chez des volontaires exposés dans des conditions contrôlées à une dose orale unique, telles qu'estimées à partir des profils plasmatiques et urinaires de métabolites.

De plus, à partir de données expérimentales chez le rat exposé par voie orale à une dose aiguë de 460 mg/kg pc de perméthrine, Anadon et al. (1991) ont estimé que la demi-vie d'élimination moyenne de la perméthrine, dérivée à partir des profils plasmatiques, était de 12 heures. Cependant la demi-vie d'élimination suite à une exposition intraveineuse à une dose de 46 mg/kg pc était en moyenne de 17 h (Anadon et al., 1991). En ce qui concerne les études animales sur la toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine, elles sont limitées aux études d'Anadon et al. (1991 et 2006). En particulier, Anadon et al. (2006) ont mené une étude sur la toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine chez deux groupes de rats Wistar mâles exposés par voie orale à une dose unique de 20 mg/kg pc (n = 80) et une dose intraveineuse de 3 mg/kg pc (n = 80). Ces auteurs rapportent des demi-vies d'élimination moyennes du composé parent dans le plasma de l'ordre de 7.55 et 10.27 h suite à l'exposition par voie intraveineuse et par orale, respectivement (Anadon et al., 2006).

2.4. La surveillance biologique de l'exposition aux pyréthrianoïdes et en particulier à la lambda-cyhalothrine

La connaissance de la toxicocinétique de composés comme les pesticides a mené à l'utilisation de plus en plus abondante de la surveillance biologique de l'exposition, qui consiste à mesurer les contaminants ou leurs métabolites dans des matrices biologiques accessibles d'individus (Ntzani et al., 2013). La surveillance biologique de l'exposition de la population générale ou des travailleurs est utile pour évaluer les doses absorbées de produits chimiques (Appenzeller et al., 2016). Diverses approches sont utilisées pour

mesurer les concentrations des métabolites dans des matrices biologiques, telles que le sang (sérum et plasma) et l'urine (Barr et al., 2005) ou bien les cheveux (Appenzeller et Tsatsakis, 2012).

L'évaluation de l'exposition de la population aux pyréthriinoïdes repose le plus souvent sur l'utilisation des biomarqueurs d'exposition dans le sang et l'urine, puisqu'il s'agit d'une mesure non invasive (CDC., 2009; Esteban et Castaño, 2009; Haines et Murray, 2012). Cependant, on ne peut pas prédire les effets sur la santé selon les niveaux de biomarqueurs, en raison de l'information insuffisante sur la relation dose-réponse (Koureas et al., 2012).

Plusieurs biomarqueurs d'exposition aux pyréthriinoïdes ont été identifiés à partir de mesures urinaires dans la population générale ou bien chez des groupes spécifiques (enfants, femmes enceintes et travailleurs agricoles). Parmi ceux-ci, on compte le 3- PBA et le *cis/trans*-DCCA (Yusa et al., 2015). Le 3-PBA est largement utilisé comme biomarqueur d'exposition aux insecticides pyréthriinoïdes dans la population générale. Morgan et al. (2016) ont rapporté que le 3 -PBA était le métabolite de pyréthriinoïdes le plus détectés dans des échantillons d'urine d'un groupe de 50 adultes en Caroline du Nord.

Les principales études de surveillance biologique de la population générale québécoise ont été menées par Fortin et al. (2008) et Couture et al. (2009). Les métabolites *trans*- et *cis*-DCCA et 3-PBA ont été retrouvés dans l'urine d'adultes et d'enfants vivant en milieu urbain (Fortin et al., 2008). Par ailleurs, Couture et al. (2008) ont documenté l'exposition d'une population rurale (n= 240 : 120 adultes et 120 enfants) de la région de Montérégie aux insecticides pyréthriinoïdes durant la période estivale de production agricole. Les niveaux de métabolites urinaires observés dans cette population rurale étaient plus importants que ceux observés dans la population urbaine (Couture et al., 2009).

De façon plus large, d'importantes enquêtes de biosurveillance ont été menées pour étudier l'exposition de la population aux substances chimiques, telles que les pesticides, comme l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé (ECMS 2013) au Canada, et le

National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) aux États-Unis (NHANES, 2009). Ces travaux sont des références pour la comparaison des niveaux biologiques d'exposition d'un groupe ou bien d'une population cible par rapport à la population générale. Cependant, ces enquêtes rapportent des mesures urinaires ponctuelles. Pour interpréter les données de la surveillance biologique, le recours à des mesures ponctuelles a été remis en question, étant donné la demi-vie d'élimination rapide des pyréthrinoïdes et la variabilité intra-individuelle (Morgan et al., 2016a).

Plusieurs études de surveillance biologique ont aussi été menées chez les travailleurs agricoles qui sont exposés d'une manière répétée et continue aux pesticides et, entre autres, aux pyréthrinoïdes. L'exposition aux pyréthrinoïdes a été évaluée chez les travailleurs agricoles de différents pays dont l'Allemagne, la Thaïlande, la Chine, l'Égypte et le Japon (Hardt et Angerer, 2003; Leng et al., 1996; Lu et al., 2013; Panuwet et al., 2008; Wang et al., 2007). Toutefois, au Canada, peu d'études récentes rapportent l'exposition des travailleurs agricoles aux pesticides pyréthrinoïdes.

Ratelle et al. (2015) ont étudié l'exposition à la cyperméthrine chez des travailleurs québécois. Ils se sont basés sur des mesures temporelles urinaires (des collectes urinaires pendant trois jours après l'exposition à une formulation à base de cyperméthrine) pour les principaux biomarqueurs d'exposition à ces pyréthrinoïdes. Les résultats de cette étude ont aidé à établir le profil temporel des biomarqueurs d'exposition à la cyperméthrine pour un groupe de travailleurs agricoles (n = 26). Les données qui découlent de cette étude ont permis de caractériser le niveau d'exposition professionnelle en établissant les doses absorbées par les travailleurs dans les champs et en définissant la principale voie d'exposition et les tâches associées à un risque élevé d'exposition.

Une autre étude québécoise a documenté l'exposition des travailleurs agricoles à un pyréthrinoïde du groupe I, la perméthrine. Ferland et al. (2014) ont mesuré les biomarqueurs d'exposition à la perméthrine à partir de collectes urinaires sériées sur trois jours, chez des travailleurs agricoles d'une ferme maraîchère (n = 12). La quantification des métabolites de la perméthrine a permis d'évaluer le niveau d'exposition chez ce groupe

de travailleur en fonction de leurs tâches de travail. Cependant, comme le 3 -PBA n'est pas un métabolite spécifique à la perméthrine, il est difficile de cerner adéquatement si un travailleur a été seulement exposé à la perméthrine ou bien il s'agit d'une co-exposition à plusieurs pesticides. Selon Ferland et al. (2014), les pics de 3 -PBA mesurés dans certains échantillons d'urine collectés avant un épisode d'épandage de perméthrine n'étaient pas attribuables à une exposition à ce pesticide spécifiquement, mais à un autre produit pyréthriinoïde dont l'ingrédient actif est la lambda-cyhalothrine (Matador[®]), en se basant sur les réponses des questionnaires des agriculteurs.

2.4.1. Les biomarqueurs d'exposition à la lambda-cyhalothrine

Comme mentionné précédemment, la lambda-cyhalothrine est rapidement métabolisée dans l'organisme animal et humain. Pour évaluer les doses absorbées de ce pyréthriinoïde, on réfère donc à la mesure de métabolites. L'urine est la matrice privilégiée puisque ces produits de dégradation sont excrétés en bonne partie via le rein.

Les métabolites urinaires de la lambda-cyhalothrine déjà identifiés et pouvant servir aux fins de suivi biologique de l'exposition sont l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), l'acide cis-3- (2-chloro-3,3, 3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (CFMP) (Figure 1) (Chester et al., 1992). Cependant, la toxicocinétique de ces molécules chez l'humain après exposition à la lambda-cyhalothrine est peu ou pas documentée. Ces données sont essentielles pour une interprétation des données de surveillance biologique.

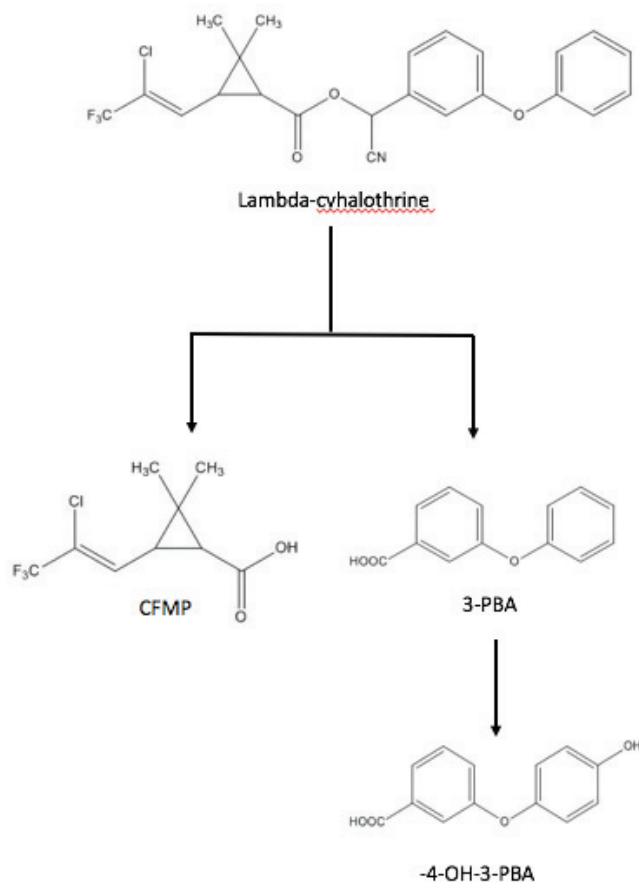


Figure 1 : Structure de la lambda-cyhalothrine et ses métabolites

Il n'existe pas non plus d'études dans la littérature qui ont documenté le suivi temporel de biomarqueurs d'exposition spécifiques à ce pyrèthrénoïde chez l'humain (population générale ou travailleurs), tels que le CFMP. Cependant, le 3-PBA, un métabolite commun à la lambda cyhalothrine et à d'autres insecticides pyrèthrénoïdes, a été mesuré comme indicateur de l'exposition globale aux pyrèthrénoïdes (Morgan et al., 2016b; Roca et al., 2014).

3. PROBLÉMATIQUE

Les insecticides pyréthrinaïdes sont largement utilisés dans les cultures au Québec. La lambda-cyhalothrine, en particulier, fait partie des produits chimiques les plus pulvérisés sur les cultures maraichères. Les travailleurs agricoles y sont exposés de façon répétée, que ce soit à la lambda-cyhalothrine ou à d'autres pesticides pyréthrinaïdes. Il est donc important de bien évaluer l'exposition à ces molécules et de développer des mesures spécifiques. La surveillance biologique de l'exposition aux pesticides par la mesure de métabolites urinaires est une approche privilégiée pour évaluer les doses réellement absorbées que soit pour la population générale ou bien dans un contexte d'exposition professionnelle dans le cas des travailleurs agricoles exerçant différentes tâches (préparation de la solution et épandage de pesticide).

L'interprétation des données de surveillance biologique nécessite toutefois une bonne connaissance du comportement cinétique de la substance d'intérêt et ses métabolites dans l'organisme humain, afin de pouvoir faire le lien entre les niveaux de biomarqueurs d'exposition chez les travailleurs et les doses réellement absorbées. Ce type de données cinétiques pour la lambda-cyhalothrine chez l'humain n'est pas disponible à l'heure actuelle. Il n'y a pas non plus de données sur des biomarqueurs d'exposition spécifiques à la lambda-cyhalothrine comme le CFMP, alors que la cinétique du 3 -PBA, non spécifique à la lambda-cyhalothrine, mais commun à plusieurs pyréthrinaïdes, est mieux étudiée. Il y a donc un besoin de réaliser une étude cinétique de la lambda-cyhalothrine chez l'humain, afin de mieux comprendre le comportement cinétique de ses biomarqueurs d'exposition spécifiques comme le CFMP et semi-spécifiques comme le 3 -PBA. Ce type d'étude permet alors d'établir les paramètres cinétiques importants comme la vitesse d'absorption et d'élimination ainsi que les estimations de fractions absorbées. Ces données sont essentielles pour une meilleure interprétation des résultats de la surveillance biologique de l'exposition chez les travailleurs.

4. OBJECTIF

Ce projet de recherche visait à documenter le profil cinétique de biomarqueurs d'exposition à la lambda-cyhalothrine en conditions contrôlées chez des volontaires, afin de fournir une base pour une meilleure interprétation des données de la surveillance biologique de l'exposition chez les travailleurs.

Méthode de recherche

II. MÉTHODOLOGIE

1. DESCRIPTION DE L'ÉTUDE CINÉTIQUE CONTRÔLÉE CHEZ LES VOLONTAIRES

Des volontaires ont été exposés dans des conditions contrôlées à une faible dose orale unique de lambda-cyhalothrine avec un suivi médical strict et selon un protocole préalablement soumis et approuvé par le Comité d'éthique de la recherche en santé de l'Université de Montréal (Projet 15-085-CERES-P).

1.1. Participants

Un recrutement sur une base volontaire a été effectué pour les participants de l'étude clinique. Ces derniers sont des étudiants de l'Université de Montréal, des membres de leur famille et leurs amis. Huit volontaires adultes en bonne santé ont été recrutés (cinq hommes et trois femmes). Ils ont été invités à participer à l'étude cinétique de la lambda-cyhalothrine et ont été exposés par voie orale. Comme l'ingestion est la principale voie d'absorption de la population générale (Morgan et al., 2016a), les participants devraient s'abstenir de manger des fruits et légumes non biologiques durant l'étude clinique et trois jours avant l'exposition. Les participants ont aussi reçu des repas biologiques durant les quatre jours d'étude ainsi que des collations et des aliments biologiques de base.

1.2. Dosage et échantillonnage

Dans un premier volet, un seul volontaire a été exposé oralement de façon aiguë à 0,0025 mg/kg pc par voie orale (correspondant à 0,175 mg pour un individu de 70 kg). Selon l'évaluation récente faite par le U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA), cette dose est considérée sans effet néfaste pour un scénario d'exposition aiguë dans la population générale incluant les enfants (US-EPA, 2011). Puisque les niveaux étaient près du bruit de fond analytique à la majorité du temps dans le plasma, la dose orale pour la

suite du déroulement de l'étude clinique chez les sept autres volontaires exposés par voie orale a été augmentée d'un facteur 10 (approuvé par le Comité d'éthique).

La dose de référence par ingestion (RfD) de 0,0025 mg/kg a été établie pour la lambda-cyhalothrine à partir d'une étude de neurotoxicité chronique chez le chien exposé par voie orale (NOEL de 0,25 mg/kg pc, respectivement, divisé par un facteur d'incertitude de 100) (U.S. EPA 2004). Les valeurs correspondantes pour la cyperméthrine sont de 0,1 et 0,06 mg/kg pc/j et celles de la perméthrine, de 0,25 mg/kg pc/j (U.S. EPA 2006 ; 2009). La dose unique utilisée est alors équivalente au *No-Observed-Effect-Level* (NOEL) avec un facteur d'incertitude interespèce de 10. Pour l'administration, le produit a été dissout dans de l'huile d'olive biologique (10 mg de produit/2 ml d'huile) puis administré à chaque volontaire, aidé de la consommation subséquente de 100 ml d'eau.

Afin de documenter la cinétique du produit mère et des métabolites dans le sang, des prélèvements sanguins sériés ont été effectués par ponction veineuse sur le bras avant l'exposition (temps -30 minutes, correspondant au prélèvement témoin) et à des heures fixes sur une période de 72 h après l'exposition, c'est-à-dire 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, et 72 h après l'administration (n = 12 prélèvements par individu). Dans le but de faciliter les prélèvements sanguins, un cathéter a été posé durant toute la journée suivant l'exposition, puis les prélèvements ont été effectués par ponctions veineuses itératives à des heures préalablement fixées.

Afin de documenter la cinétique urinaire des métabolites, des urines complètes ont aussi été recueillies dans des pots distincts et clairement identifiés (groupe, individu, heure) à des périodes fixes, à savoir une collecte nocturne avant exposition et 0 – 3, 3 – 6, 6 – 9, 9 – 12, 12 – 24, 24 – 36, 36 – 48, 48 – 60, 60 – 72, 72 – 84 h après administration (n = 11 collectes par individu et toute miction à l'intérieur d'une période établie a été combinée au même contenant). Toutes les mictions ont été recueillies dans des bouteilles en polypropylène Nalgene® de 1.5 L déjà identifiées et codées afin de respecter l'anonymat des volontaires. Après la collecte, les échantillons ont été conservés au réfrigérateur avant la mesure de l'urine totale. Par la suite, chaque miction a été répartie en aliquotes, soit dans

cinq tubes de 15 ml et un contenant de 120 ml avant la conservation à -20 °C jusqu'à l'analyse. En ce qui concerne les échantillons de sang, ils ont été centrifugés directement après le prélèvement afin de précipiter les globules rouges et isoler le plasma. Par la suite, les échantillons de plasma ont été répartis en aliquotes de 2 ml étiquetés et entreposés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

Les volontaires ont passé les premières 12 h suivant l'administration de la dose dans un local du Département santé environnementale et santé au travail de l'Université de Montréal. Durant les quatre jours d'échantillonnage qui ont suivi, les participants se sont rendus au département quotidiennement le matin pour effectuer un prélèvement sanguin et y porter leur collecte d'urine. Au cours de la période d'étude, les volontaires ont également été invités à remplir un questionnaire afin de documenter des informations personnelles (poids, taille), leurs habitudes de vie (activités physiques, exposition au pesticide, consommation de médicaments, d'alcool et de fruits et légumes).

1.3.Traitement et analyse des échantillons biologiques

Les échantillons de plasma et d'urine ont été traités pour l'analyse de métabolites CFMP et 3 -PBA de la lambda-cyhalothrine.

1.3.1. Produits commerciaux utilisés

Des standards de référence de 3-PBA ainsi que le standard interne marqué de $^{13}\text{C}_2$ 1D *trans*-DCCA et $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA (97-98 % pure) ont été achetés chez Cambridge Isotope Laboratories inc. (Andover, MA, USA). Les standards de référence de CFMP (> 95 % pure) ont été achetés chez ArkPharm. De l'acétonitrile et du méthanol de grade de Honeywell, de l'acide acétique de grade HPLC et de l'acétate d'éthyle ont été obtenus chez Fisher Scientific (Ottawa, ON, Canada). L'enzyme β -glucuronidase/arylsulfatase (100000 Fishman U/ml and 800000 Roy U/ml de *Helix pomatia*) a été obtenue de Roche Diagnostics (Laval, QC, Canada).

1.3.2. Traitement des échantillons plasmatiques et urinaires

Afin de quantifier les métabolites de la lambda-cyhalothrine dans les échantillons biologiques, deux ml de plasma ont été traités. Chaque échantillon a été enrichi par l'ajout de 5 µl d'un mélange de standard interne de $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA et $^{13}\text{C}_2$ 1D *trans*-DACCA à une concentration de 20 nmol/ml. Deux millilitres de tampon d'acétate de sodium à 0.1 M, pH 5, ont été ajoutés et les échantillons ont été incubés pendant 16 h avec 20 µl de β -glucuronidase/arylsulfatase à 37 °C dans un bain agitateur pour obtenir la somme des métabolites libres et conjugués. Une extraction liquide-liquide a ensuite été effectuée, à deux reprises, avec 4 ml d'acétate d'éthyle saturé en eau (en agitant pendant 20 minutes et en centrifugeant à 3400 rpm pendant 15 minutes à 4 °C). La phase organique supérieure récupérée après chaque extraction a été combinée dans un tube de verre de 10 ml et le solvant a été évaporé à sec sous un jet d'azote dans un bain à 35 °C. Les résidus ont été remis en suspension dans 500 µl de méthanol, et les échantillons ont été centrifugés pendant 60 secondes à 3000 rpm puis transférés dans des flacons à HPLC pour analyse.

Pour l'analyse des métabolites de la lambda- cyhalothrine dans les différents échantillons d'urine de volontaire exposés, 5 ml d'urine ont été traités. Chaque échantillon a été enrichi par l'ajout de 10 µl d'un mélange de standards internes de $^{13}\text{C}_2$ 1D *trans*-DCCA et $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA à une concentration de 20 nmol/ml. Le pH a été ajusté à 5 en ajoutant 5 ml de tampon acétate de sodium (0.1 M, pH 5), et une hydrolyse enzymatique a été réalisée avec 20 µl de β -glucuronidase/arylsulfatase pendant 16 h à 37 °C. Par la suite, les échantillons ont été soumis une extraction en phase solide avec des cartouches Sep-Pak C18 (Waters, Milford, MA, USA). Les cartouches ont d'abord été conditionnées avec 4 ml de méthanol puis 8 ml d'eau. Les urines ont été passées à travers la colonne. Les cartouches ont été lavées avec 8 ml d'eau. Les analytes ont ensuite été élués de la colonne avec 8 ml de méthanol dans des tubes en verre de 10 ml. Le solvant a été évaporé à sec sous un jet d'azote dans un bain à 35 °C. Les résidus ont été remis en suspension dans 1000 µl de méthanol, et les échantillons ont été centrifugés pendant 60 secondes à 3000 rpm puis transférés dans des flacons HPLC pour analyse.

1.3.3. Quantification des biomarqueurs d'exposition

L'analyse du CFMP et du 3 -PBA a été effectuée en utilisant un système de chromatographie liquide à ultrahaute performance (UHPLC) de Agilent, Modèle LC-1290, muni d'une pompe binaire Gradient UHPLC (Agilent, Mississauga, Canada), d'un échantillonneur automatique et d'un compartiment à colonnes thermostaté (Agilent, Mississauga, Canada), et couplé à un spectromètre de masse (MS) modèle 6530 quadripôle à temps de vol (Q-ToF) (Agilent, Mississauga, Canada) avec une source d'ionisation par électro nébulisation (AJS ESI). L'ionisation a été réalisée en mode négatif et tous les paramètres spécifiques ESI-MS ont été manuellement optimisés. Les composés ont été séparés en utilisant une colonne C18 Zorbax Eclipse Plus (2,1 x 50 mm ; 1,8 μ m, HD) d'Agilent (Mississauga, ON, Canada). La température de la colonne a été maintenue à 40 °C. La phase mobile consistait en un éluant A composé d'eau et d'acide acétique à 0,1 % et un éluant B de méthanol avec de l'acide acétique à 0,1 %. L'élution a été effectuée en 11 min en utilisant un gradient de solvant, à un débit de 0,4 ml/min. Le programme suivant a été utilisé : i) 2 % B pour 2 min ; ii) gradient linéaire à 30 % de B de 2 à 2,5 min ; iii) maintien à 30 % B de 2,5 à 3,5 min ; iv) augmentation jusqu'à 55 % B de 3,5 à 4 min et v) jusqu'à 60 % B de 4 à 7,5 min; vi) gradient linéaire jusqu'à 98 % B de 7,5 à 8 min; vii) maintien à 98 % B de 8 à 9,5 min; viii) retour aux conditions initiales de 2 % B en 1,5 min. Les échantillons ont été conservés à 5 °C sur le plateau d'injection et 5 μ l ont été injectés.

Les masses exactes des analytes ont été déterminées avec les conditions optimisées MS suivantes (paramètres tels que définis par l'instrument) : température du « sheath gas » (N_2) à 365 °C et « sheath gas flow rate » de 10 l/min; pression du « nebulizer gas » à 50 psi; température du « drying gas » (N_2) à 200 °C et « drying gas flow rate » à 12 l/min; « capillary voltage » (Vcap) à 3000 V, « nozzle voltage » à 1000 V, « fragmentor » à 75 V, « skimmer » à 65 V et « octopole » à 750 V.

Les ions précurseurs [M-H]⁻ analysés étaient : m/z 241,02487 pour le CFMP, m/z 213,05572 pour le 3 -PBA, m/z 212,00955 pour le ¹³C₂ 1 D *trans*-DCCA et 219,07585

pour le $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA. La masse de l'isotope A+2 du chlore a été utilisée pour le $^3\text{C}_2$ 1D trans-DCCA afin d'éviter les interférences avec la masse isotopique du standard non marqué. L'identification et la quantification ont été réalisées en utilisant le mode Extracted Ion Chromatogram (EIC).

La quantification a été effectuée à partir de courbes d'étalonnage dans l'urine ou dans le plasma. Les concentrations de la courbe variaient entre 25 et 500 pmol/ml d'extraits méthanoliques. Les signaux de réponse ont été établis à partir du ratio de surface des ions précurseurs de chaque analyte sur celui du standard interne. La limite de détection (LOD) dans le plasma et l'urine était d'environ 10 fmol injectée dans le système UHPLC (égale à 3 écarts types de ratio d'un blanc analysé 10 fois divisé par la pente de la courbe de calibration). La répétabilité analytique, soit la variabilité intrajournalière, a été testée à partir des réplicats d'échantillons obtenus avec la même méthode dans les mêmes conditions de calibration et de réglage (des échantillons de blancs enrichis à deux niveaux de concentration de standards de référence ou bien deux contrôles positifs) et se situait en dessous de 5 %.

1.4. Détermination des niveaux biologiques

Les niveaux plasmatiques ont été exprimés en concentrations (pmol/ml) et en pourcentage de la dose administrée. Les niveaux urinaires ont été exprimés soit en taux d'excrétion (pmol/h/kg pc) soit en concentrations ajustées pour la créatinine ($\mu\text{mol/mol}$ créat.). La créatinine dans l'urine a été mesurée par la méthode de Jaffé, qui utilise l'acide picrique alcalin avec dé-protéinisation (PAP test colorimétrique enzymatique de Boehringer Mannheim, Allemagne). Les excrétions urinaires cumulatives ont également été calculées (exprimées en % de la dose).

1.5. Analyse toxicocinétique

Comme première étape d'analyse, des paramètres toxicocinétiques de base ont été déterminés à partir des profils cinétiques plasmatiques et urinaires des métabolites de

pyréthrinoïdes après exposition par voie orale. Pour ce faire, il a été considéré que, à la suite du dosage, un équilibre dynamique était rapidement atteint entre les niveaux tissulaires et plasmatiques de métabolites (que les niveaux plasmatiques et tissulaires venaient rapidement à évoluer en parallèle) et donc que le corps pouvait être représenté en utilisant un modèle à un seul compartiment avec une élimination de premier ordre (Tornero-Velez et al., 2012). Il a également été considéré, sur la base de la littérature, que le métabolisme de la lambda-cyhalothrine en CFMP et 3 -PBA était quasi instantané (de l'ordre de minutes par rapport à des heures pour l'élimination). Les données ont donc été adaptées à l'équation suivante en utilisant une routine mathématique dans Matlab, qui fournit un meilleur ajustement d'une équation générale aux données expérimentales observées :

$$C(t) = Ae^{-k_{abs} \cdot t} + Be^{-k_{elim} \cdot t}$$

Où :

- C (t) est la concentration plasmatique en fonction du temps (ou du taux d'excrétion urinaire)
- A et B sont les coefficients pré-exponentiels
- K_{abs} et k_{elim} sont les coefficients de vitesse hybrides pour les phases d'absorption et d'élimination, respectivement.

Le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale (T_{max}) ainsi que les demi-vies apparentes d'absorption (ln 2/k_{abs}) et d'élimination (ln 2/ k_{elim}) ont également été déterminées.

À partir des profils temporels des concentrations plasmatiques (C), l'aire sous la courbe (« area under the curve » ou AUC), l'aire sous la courbe du premier moment (« area under the first moment curve » ou AUMC), le temps de résidence moyen (« mean residence time » ou MRT), la clairance plasmatique (CL) et le volume de distribution apparent (Vd) ont également été calculés. Les équations utilisées pour calculer ces paramètres sont :

$$AUC = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n (t_i - t_{i+1}) [C(t_i) + C(t_{i+1})]$$

$$AUMC = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i+1}) [t_i C(t_i) + t_{i+1} C(t_{i+1})]$$

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

$$CL = \frac{\text{Dose absorbée (fraction de la dose administrée)}}{AUC}$$

$$Vd = \frac{CL}{kelim}$$

1.6. Considérations éthiques

La participation des individus à cette étude s'est faite sur une base volontaire. Les sujets désirant y participer ont dû signer un formulaire de consentement libre et éclairé, après avoir reçu toute l'information nécessaire concernant le projet. Chaque participant était libre de se retirer à tout moment s'il le désirait, sans aucun préjudice. Le protocole d'étude, le formulaire de consentement, ainsi que les autres documents pertinents ont été approuvés par le Comité d'éthique de la recherche en santé de l'Université de Montréal (Projet 15 -085-CERES). De plus, les doses d'expositions proposées ont été sélectionnées de façon à être sécuritaires et à ne pas induire d'effets néfastes chez les volontaires. Les signes et symptômes cliniques ont été suivis par du personnel médical certifié durant toutes les expériences. L'anonymat des sujets a aussi été respecté par une codification des échantillons.

Article

III. ARTICLE

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Rania Khemiri :

- A travaillé en étroite collaboration avec sa directrice pour la préparation des documents et outils nécessaires à l'étude clinique : protocole de déroulement de l'étude, questionnaires, formulaires de consentement et autres documents éthiques.
- Recrutement des volontaires, personnel médical et chef de cuisine pour les repas biologiques préparés.
- A travaillé en collaboration avec sa directrice pour le bon déroulement de l'étude cinétique contrôlée.
- A participé à l'analyse des échantillons biologiques avec les techniciens de laboratoire.
- A travaillé en étroite collaboration avec sa directrice et le professionnel de recherche Jonathan côté pour la compilation et l'interprétation des résultats.
- A produit un premier jet de la plupart des sections d'articles et intégré les commentaires des coauteurs en interaction avec sa directrice.

Michèle Bouchard

- A conçu le projet et préparé la demande de subvention du projet de recherche.
- A préparé les premières versions des outils nécessaires au déroulement de l'étude globale et a travaillé sur les révisions en étroite collaboration avec Rania Khemiri.
- A travaillé en collaboration avec Rania Khemiri pour le bon déroulement de l'étude cinétique contrôlée.
- A travaillé sur la compilation et l'interprétation des résultats en lien étroit avec Rania Khemiri et Jonathan Côté.
- A contribué à la rédaction du manuscrit et la révision des diverses versions, en interaction étroite avec Rania Khemiri.

Jonathan Côté

- A contribué au traitement et à la compilation des données.
- A relu l'article et produit des commentaires.

Hamadi Fetoui

- A contribué à la conception du projet en collaboration avec Michèle Bouchard.
- A contribué aux échanges sur l'interprétation des données.
- A révisé l'article.

Documenting the kinetic time course of lambda-cyhalothrin metabolites in orally exposed volunteers for the interpretation of biomonitoring data

Rania Khemiri ^a, Jonathan Côté ^a, Hamadi Fetoui^b, Michèle Bouchard ^a

^a Department of Environmental and Occupational Health, Chair in Toxicological Risk Assessment and Management, and University of Montreal Public Health Research Institute (IRSPUM), University of Montreal, Roger-Gaudry Building, U424, P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

^b Laboratory of Toxicology-Microbiology and Environmental Health (LR17ES70), Faculty of Sciences, University of Sfax, BP 1171, 3000, Sfax, Tunisia

Correspondence to:

Michèle Bouchard
Department of Environmental and Occupational Health
University of Montreal
Roger-Gaudry Building, U424
P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7.
E-mail : michele.bouchard@umontreal.ca
Telephone number: (514) 343-6111 ext 1640
Fax number: (514) 343-2200

1. ABSTRACT

Lambda-cyhalothrin is a pyrethroid pesticide largely used in agriculture. Exposure assessment can be performed by measuring key urinary metabolites. For a proper use of biomonitoring data, it is however important to gain information on the toxicokinetics of these key biomarkers of exposure. A human volunteer study was performed to document the plasma and urinary time courses of major lambda-cyhalothrin metabolites. Seven volunteers ingested 0.025 mg kg^{-1} body weight of lambda-cyhalothrin. Blood samples were withdrawn prior to dosing and at fixed time periods over the 72 h-period following ingestion and complete urine voids were collected pre-exposure and at pre-established intervals over 84 h post-dosing. The *cis*-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (CFMP) and 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) metabolites were quantified in these samples. Plasma concentrations of CFMP and 3-PBA increased rapidly after ingestion, with average peak values at 3.1 and 4.0 h post-dosing, respectively; subsequent elimination phase showed a rapid decay with a mean half-life ($t_{1/2}$) of ≈ 5.3 and 6.4 h for CFMP and 3-PBA, respectively. Urinary rate time courses displayed a profile similar to the plasma concentration-time curves with corresponding mean $t_{1/2}$ of ≈ 4.2 and 5.9 h. In the 84-h period post-treatment, on average 21% of lambda-cyhalothrin dose were excreted in urine as CFMP as compared to 30% as 3-PBA. Overall, CFMP and 3-PBA metabolites were confirmed to be major metabolites of lambda-cyhalothrin and exhibited similar kinetics with short half-lives; they thus both appear as useful biomarkers of exposure to lambda-cyhalothrin in humans.

Keywords: Pyrethroid; lambda-cyhalothrin; biomarkers of exposure; *cis*-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (CFMP); 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA); oral exposure; volunteers.

2. INTRODUCTION

Pyrethroids are a group of synthetic insecticides, which were initially manufactured in the 1970s following the ban of organochlorine insecticides. They are analogs of the naturally occurring compound pyrethrin derived from the flowering plants *Chrysanthemum cinerariae folium*. They are basically divided into two types: type I without a cyano moiety at the alpha-position of the cyclopropane carboxylate structure and type II having an alpha-cyano moiety (Nasuti et al., 2003).

The mode of action of pyrethroids on the neurological system of insects is known to be via interactions with neuronal voltage-gated sodium channels (Field et al., 2017). Pyrethroids bind to these channels and prevent their transition from an activated to an inactivated state (Field et al., 2017). This causes a prolonged depolarization of excitable cell membranes leading to paralysis and death of targeted insects (Narahashi et al., 1992, 2007). Pyrethroids are much less neurotoxic to humans, owing in part to differences in sodium channel sequences, and thus in the binding capacity of pyrethroids to these channels (Field et al., 2017). However, there have been reports of acute symptoms after pyrethroid poisoning or incidents in workers; these include neurological and respiratory symptoms (Saillenfait et al., 2015). Some epidemiological studies have also found associations between pyrethroid exposure and effects on male human reproduction (sperm sex ratio) as well as child neurodevelopment (Jurewicz et al., 2016; Watkins et al., 2016). Pyrethroids have also been reported to induce modulations of the endocrine and immune systems as well as oxidative stress following high dosing in rats (Righi et al., 2009; Yousef, 2010; Ansari et al., 2012; Fetoui et al., 2012). Nevertheless, transposition of the latter results for risk assessment in humans exposed to much lower doses, repeated over time, has not been established.

Exposure to pyrethroids in the general population may occur by dietary intake of pesticide residues on fruits, vegetables, cereals but also by dermal contact and respiratory uptake in certain circumstances (Fortin et al., 2009; Curwin et al., 2005). In agricultural workers, respiratory exposure of applicators has been documented as well as dermal

exposure of field crop workers, but indirect oral exposure by hand-to-mouth contact has also been reported (HSE, 2007; Ratelle et al., 2016; Ferland et al., 2016).

Because of their large use, several *in vitro* metabolism studies and *in vivo* experiments in mammals have been carried out for different pyrethroids to clarify their common metabolic pathways (Abe et al., 2017). The main metabolic pathways were found to be oxidations of both acid and alcohol moieties, ester cleavage, and conjugation reactions (Kaneko, 2010; Kaneko and Miyamoto, 2001; Mikata et al., 2012; Wang et al., 2016).

The metabolism of lambda-cyhalothrin, which is among the most widely applied pyrethroid in agriculture, has been documented to occur by hydrolysis catalyzed by esterases (Anadón et al., 2006). The main degradation metabolites include cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2 dimethylcyclopropanecarboxylic acid (CFMP) and 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) (Chester et al., 1992). These metabolites have been measured in human urine as biomarkers of exposure (Thomas et al., 2016). In particular, Chester et al. (1992) measured levels of lambda-cyhalothrin metabolites in spot urine samples of workers exposed to this pesticide.

However, until now, data on the kinetic behavior of lambda-cyhalothrin in humans are scarce. The only available biokinetic information is based on animal experiments. Anadón et al. (2006) published data on the kinetics of the lambda-cyhalothrin, which is limited to the rats and the fate of the parent compound in the body. Knowledge of the kinetics of metabolites is essential for a proper use of these biomarkers of exposure in biomonitoring studies. Therefore, the aim of this study was: i) to document the time courses of lambda-cyhalothrin metabolites in humans after oral exposure, and ii) to determine main toxicokinetic parameters to help interpretation of biomonitoring data in workers exposed to this pesticide.

3. MATERIALS AND METHODS

3.1. Study design

A controlled kinetic time course study of lambda-cyhalothrin metabolites in accessible biological matrices of healthy subjects was conducted following an acute oral exposure. A preliminary study was initially conducted on one volunteer at a dose equal to the acute oral reference dose (RfD) of 0.0025 mg/kg established by the U.S. EPA (U.S. EPA, 2004). Metabolites were measured in plasma and urine samples prior to exposure and at predetermined time points post-treatment. Since this dosing level did not allow to clearly establish the plasma kinetics, dosage was increased to 0.025 mg/kg for the main kinetic study.

The experimental protocol and consent forms were approved by the Research Ethics Committee of the Université de Montréal. All the participants gave their written consent and were informed of the risks of participating and their right to withdraw from the study at any time. The participants received a monetary compensation for their time and any inconvenience caused. None of the volunteers reported symptoms during the study period.

3.2. Subjects

Participants were recruited on a voluntary basis among students of the University of Montreal and their family and friends. Volunteers were young healthy, non-smokers and did not take medication. They had not been exposed to pyrethroids during the three month-period prior to the experimental dosing protocol, except perhaps through diet. During the three days prior to the onset of the study, participants were requested not to eat fruits, vegetables or nuts and were provided with organic bread, cereals, milk and jelly. During the 4-day biomonitoring period, volunteers were provided with the meals and snacks prepared with certified organic ingredients in order to limit ingestion of contaminated food, since it is known that diet is usually the main absorption route of pesticides in the general population (Schettgen et al., 2002). They were also requested to avoid consumption of tea,

herbal tea, alcohol and drugs during this period, since it can affect metabolism of some chemical compounds by interfering with enzyme activity (Choi et al., 2002; Gueguen et al., 2006).

3.3. Dosing

The experimental dosing and sampling were conducted at the Department of Environmental and Occupational Health of the Université de Montréal, Canada. The morning of study onset, a control blood sample was collected from each volunteer 30 min before dosing and a complete urine void was collected during the three hours prior to dosing.

A preliminary acute oral dosing study was conducted in one volunteer to verify if metabolite levels were sufficiently high to establish a kinetic time course in plasma and urine. For this preliminary experiment, the dosing was set at 0.0025 mg of lambda-cyhalothrin/kg body weight (bw) (purity \leq 100%; purchased at Supelco, Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario), the value of the acute RfD. For the main kinetic time course study in orally exposed volunteers, the dosing level was increased to 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin to be able to establish a kinetic time course in plasma. Seven other volunteers participated in this main kinetic study. The compound administered was dissolved in biological olive oil (1 mg of product in 2 ml of oil for the 0.0025 mg/kg bw dosing and 10 mg of product in 2 ml of oil for the 0.025 mg/kg bw dosing). Following dosing, volunteers were given 100 ml of water. The tip used for dosing was then rinsed with pure oil and administered to the participants with another 100 ml of water.

3.4. Sampling for oral exposure

For oral exposure, blood samples of 30 ml (3 x 10 ml tubes) were collected at specific times, up to 72 h post-dosing: -0.5, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 48, and 72 h after ingestion (n = 12 samples per individual per dosing). To facilitate collection, a catheter was installed by a nurse prior to dosing. Blood was withdrawn by the nurse into vacutainers

with a code, the date and time of sampling. Immediately after collection, blood samples were centrifuged to precipitate red blood cells and isolate plasma. Plasma samples were then split into labelled aliquots and stored at -20°C until analysis.

Total urine voided over specific periods was also collected: -3-0, 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36, 36-48, 48-60, 60-72, 72-84 h post-administration (n = 11 collections per individual). To assist participants, they received a schedule specifying the date and the required time of urine collection. They then only had to complete the sheet with the actual time of collection and to indicate whether or not there were any urine losses. Each timed-void was collected in separate polypropylene Nalgene® bottles of 500 ml, already identified. Once collected, urine samples were kept in the refrigerator prior to measurement of total urine volume per void. Each urine collection then was aliquoted in 3 labelled pyrex tubes of 15 ml and one bottle of 90- 100 ml before storage at -20°C until analysis.

Volunteers spent the first 12-h postdosing in a room at the Department. During the following 4 days, participants visited the Department for their daily morning blood sampling and to hand-in urine collections. Volunteers were further asked to fill a questionnaire to document personal information (weight, height) and life habits (i.e. physical activities, exposure to second-hand smoke) during the study period as well as confirm the absence of consumption of drugs, alcohol, tobacco or non-organic food during this period, and possible dosing-related symptoms.

3.5. Sample treatment and analysis

3.5.1. Chemicals and reagents

Reference standards of 3-PBA and the internal standards of $^{13}\text{C}_2$ 1D *trans*-DCCA and $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA (97-98% purity) were purchased from Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, MA, USA). Reference standards of CFMP (> 95% purity) was purchased from ArkPharm. MS grade methanol was purchased from Honeywell. Glacial HPLC grade acetic acid, ethyl acetate and sodium acetate were obtained from Fisher Scientific (Ottawa,

ON, Canada). β -Glucuronidase/arylsulfatase (100000 Fishman U/ml and 800000 Roy U/ml from *Helix pomatia*) was obtained from Roche Diagnostics (Laval, Quebec, Canada).

3.5.2. Blood and urine sample treatment

Two ml aliquots of plasma of exposed individuals were spiked with 5 μ l of $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA and $^{13}\text{C}_2$ 1D *trans*-DCCA internal standard mix at a concentration of 20 nmol/ml (since there was no deuterated CFMP available). Two ml of acetate buffer, 0.1 M at pH 5, was added and samples were incubated for 16 h with 20 μ l of β -glucuronidase/arylsulfatase at 37°C in a shaking bath to obtain the sum of free and conjugated metabolites. This was followed by a liquid-liquid extraction twice with 4 ml of saturated ethyl acetate (stirring for 20 minutes and centrifugation at 3400 rpm for 15 min at 4°C). The upper organic layer from each extraction was combined into a 10-ml glass tube and the solvent was evaporated to dryness under a gentle nitrogen flow at 35°C. The residues were resuspended in 500 μ l of methanol, centrifuged 60 sec at 3000 rpm and transferred to vials for analysis.

Five-ml aliquots of urine of exposed individuals were spiked with 10 μ l of internal standard mix of $^{13}\text{C}_2$ 1D *trans*-DCCA and $^{13}\text{C}_6$ -3-PBA at a concentration of 20 nmol/ml. The pH was adjusted to 5 by adding 5 ml acetate buffer (0.1 M) and an enzymatic hydrolysis was performed with 20 μ l of β -glucuronidase/arylsulfatase in a shaking bath for 16 h at 37°C. Analytes were then extracted using Sep-Pak C18 cartridges (Waters, Milford, MA, USA). The cartridges were first conditioned with 4 ml of methanol, followed by 8 ml of water. The urines were passed through the column and discarded. The cartridges were washed with 8 ml of water. Analytes were then eluted from the column with 8 ml of methanol into 10 ml glass tubes. The solvent was evaporated to dryness under a gentle nitrogen flow at 35°C. The residues were resuspended in 1000 μ l of methanol, centrifuged 60 sec at 3 000 rpm and transferred to vials for analysis.

3.5.3. UHPLC/Q-ToF MS analysis

Analysis of CFMP and 3-PBA was performed by ultra-high performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC/Q-ToF MS). The modules were composed of an Agilent Model 1290-LC Binary Gradient UHPLC system (Agilent, Mississauga, Canada) connected to an Agilent model 1290 autosampler and thermostated column compartment (Agilent, Mississauga, Canada), and coupled to a Model 6530 quadrupole time-of-flight mass spectrometer (Agilent, Mississauga, Canada) with a jetstream electro-spray ionization (AJS ESI) source. The AJS ESI interface was operated in negative ion mode and its specific ESI-MS parameters were all manually optimized.

The compounds were separated using a C₁₈ Zorbax Eclipse Plus column (2.1 x 50 mm; 1.8 μ m, HD) from Agilent (Mississauga, Canada). The column temperature was maintained at 40°C. The mobile phase consisted of eluent A composed of water and 0.01% acetic acid, and eluent B of methanol with 0.01% acetic acid. Elution was performed in 11 min using a solvent gradient, at a flow rate of 0.4 ml/min. The following solvent program was used: i) 2% eluent B for 2 min, ii) linear gradient to 30% eluent B from 2 to 2.5 min, iii) maintained at 30% eluent B from 2.5 to 3.5 min, iv) increased to 55% eluent B from 3.5 to 4 min and then v) to 60% eluent B from 4 to 7.5 min, vi) linear gradient to 98% eluent B from 7.5 to 8 min, vii) maintained at 98% eluent B from 8 to 9.5 min, and viii) returned to initial conditions of 2% eluent B in 1.5 min. The LC flow was sent to waste before 4 min and then switched to MS to prevent ion suppression by salts contained in matrices. The analytical compounds eluted between 7.2 and 8.1 min. Samples were kept at 5°C on the injection tray and 5 μ l were injected.

The exact masses of the analytes were determined in MS mode using the following ToF conditions: sheath gas (N₂) temperature at 365°C and gas flow rate of 10 l/min; nebulizer gas pressure of 50 psi; drying gas temperature (N₂) at 200°C and flow rate of 12 l/min; capillary voltage (V_{cap}) at 3000 V, nozzle voltage at 1000 V, fragmentor at 75 V, skimmer at 65 V and octopole at 750 V. The precursor ions [M-H]⁻ analyzed were *m/z* 241.02487 for CFMP, *m/z* 213.05572 for 3-PBA, *m/z* 212.00955 for ¹³C₂ 1D *trans*-DCCA and *m/z* 219.07585 for ¹³C₆ 3-PBA. The A+2 isotope mass of Cl was used for ¹³C₂ 1D

trans-DCCA to avoid interference with the isotope mass of the unlabelled standard. Identification and quantification were performed in Extracted Ion Chromatogram (EIC) mode.

Quantification was obtained from standard calibration curves in urine or in plasma. These curves were established by plotting the response factors as a function of the concentrations levels, over a maximum range of 25 to 500 pmol/ml depending. The response factors corresponded to the peak-area ratios of each compound ion to the internal standard ion. The limit of detection (LOD) in plasma and urine was circa 10 fmol injected in the UHPLC system (equal to 3 standard deviations of response ratio from replicate analysis of a blank divided by mean slope of the standard curves). Repeatability from replicate analysis of samples under the same calibration and tuning conditions (blank samples spiked with authentic reference standards at two levels or positive controls) was below 5%.

3.6. Toxicokinetics analysis

To determine toxicokinetic parameters on the basis of blood and urinary time courses of metabolites following oral exposure, we assumed a dynamic equilibrium between tissue and blood levels (blood and tissue levels evolving in parallel) and thus that the body could be represented using a one compartment model with first-order elimination (Renwick, 2008; Tornero-Velez et al., 2012). We also considered a quasi-instantaneous metabolism of lambda-cyhalothrin to CFMP and 3-PBA (in the order of min compared to h for elimination). Data were thus fitted to the following equation by using a mathematical routine in Matlab, which provides a best-fit of a general equation to observed experimental data: $C(t) = Ae^{-k_{abs}.t} + Be^{-k_{elim}.t}$ where $C(t)$ is the blood concentration as a function of time (or urinary excretion rate), A and B are the preexponential coefficients and k_{abs} and k_{elim} are the hybrid rate coefficients for the absorption and elimination phases, respectively. Time-to-peak levels (T_{max}) along with the apparent absorption ($\ln 2/k_{abs}$) and elimination half-lives ($\ln 2/k_{elim}$) were also determined.

From plasma concentration (C) - time profiles, we further calculated the discrete version of the area under the concentration-time curve (AUC), the area under the first moment of concentration-time curve (AUMC), the mean residence time (MRT), the plasma clearance (CL), the apparent volume of distribution (V_d). Equations used to calculate these parameters are:

$$AUC = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i+1}) [C(t_i) + C(t_{i+1})]$$

$$AUMC = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i+1}) [t_i C(t_i) + t_{i+1} C(t_{i+1})]$$

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

$$CL = \frac{\text{Absorbed dose (fraction of administered dose)}}{AUC}$$

$$Vd = \frac{CL}{k_{elim}}$$

4. RESULTS

4.1. Time courses of CFMP and 3-PBA in plasma

Figure 1A depicts the time courses of CFMP and 3-PBA in plasma over the 72-h period following ingestion of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin in seven volunteers. Figure 1B shows corresponding profile for the volunteer dosed with 0.0025 mg/kg bw. The profiles of both metabolites evolved fairly in parallel. Prior to dosing (t_0), concentrations of metabolites of CFMP and 3-PBA were below the analytical limit of detection or very low (1.02 - 1.7 pmol/ml). For the volunteer exposed to 0.0025 m/kg bw, it was not possible to determine appropriate toxicokinetic parameters because concentrations returned rapidly to baseline levels (Fig. 1B). However, toxicokinetic parameters could be calculated from the concentration-time profiles of CFMP and 3-PBA in plasma of the seven volunteers exposed to the 10-fold higher dose of 0.025 mg/kg bw (Tables 1-2). Absorption was observed to be rapid, with a mean absorption rate of 0.3 and 0.2 h⁻¹ for CFMP and 3-PBA respectively, corresponding to a calculated mean apparent absorption rate corresponding to a half-life ($t_{1/2}$) of 2.0 and 3.0 h for CFMP and 3-PBA, respectively. Elimination rate of the metabolites from plasma (k_{elim}) was also rapid, with a mean of ≈ 0.1 h⁻¹ for the two assessed metabolites, which corresponds to a calculated mean apparent elimination $t_{1/2}$ of 5.3 and 6.4 h for CFMP and 3-PBA, respectively. The mean residence time (MRT) was similar for both metabolites. CFMP and 3-PBA also had similar relatively small lower-bound estimates of apparent volume of distribution (V_d).

4.2. Time courses of CFMP and 3-PBA in urine

Figure 2A presents the time courses of CFMP and 3-PBA excretion rate in the urine over the 84-h period following ingestion of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin in seven volunteers. Figure 2B shows corresponding excretion profile for the volunteer dosed with 0.0025 mg/kg bw. Prior to dosing, urinary levels varied between 0.21 and 4.9 pmol/ml. Toxicokinetic parameters were calculated from the excretion rate-time profiles of CFMP and 3-PBA in urine of the seven volunteers exposed to 0.025 mg/kg bw of lambda-

cyhalothrin (Tables 1-2). Absorption and elimination rates were similar for both metabolites. Mean apparent absorption $t_{1/2}$ of 2.7 and 2.6 h and elimination $t_{1/2}$ of 4.2 and 5.9 h were estimated for CFMP and 3-PBA, respectively (Table 1). The cumulative urinary excretion of CFMP and 3-PBA over the 84-h collection period post-dosing was also established (Fig. 3). Table 1 shows that, on average, 21 and 30% of lambda-cyhalothrin were recovered as CFMP and 3-PBA, respectively, in urine of the seven volunteers dosed with 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin. For the volunteer exposed to 0.0025 mg/kg bw, the apparent absorption $t_{1/2}$ was calculated to be 4.8 and 6.3 h, for CFMP and 3-PBA, respectively, and the corresponding apparent elimination $t_{1/2}$ was estimated at 4.7 and 6.7 h. For this volunteer, cumulative percent of dose excreted in urine as CFMP and 3-PBA over the 84-h period post-dosing was 59 and 21% (Fig. 1B). The percentage of dose recovered as CFMP in urine appeared higher for this volunteer dosed at a 10-fold lower level of lambda-cyhalothrin as compared to the mean of 21% in the seven other volunteers dosed with the higher dose, but urinary concentrations were close to the limit of detection, such that caution should be made in the interpretation of this value.

4.3. Comparison of plasma and urinary time courses

As expected, comparison of plasma and urinary rate time courses in the studied volunteers (Figs. 1 and 2) showed that profiles evolved quite in parallel. The apparent absorption and elimination half-lives of CFMP and 3-PBA calculated from the time courses were thus in the same value range whether blood or urine was used (Table 1). However, for both CFMP and 3-PBA, plasma levels (nmol) were about 4-10-fold higher than urinary excretion rates (nmol/h), indicating that the transfer rate of metabolites from plasma to urine was approximately $0.3\text{--}0.1\text{ h}^{-1}$, corresponding to a half-life of $\approx 2.7\text{--}6.7\text{ h}$.

5. DISCUSSION

This study provided novel data on the toxicokinetics of biomarkers of exposure to lambda-cyhalothrin following oral exposure in humans, for a better interpretation of biomonitoring data. Assessment of the time courses of metabolites in plasma and urine showed that lambda-cyhalothrin was absorbed into the systemic circulation and cleared rapidly from the body after a single low-dose in volunteers. Calculated apparent absorption and elimination half-lives (\approx 2-3 h and 4-6 h) were in the same value range as those observed following a similar biokinetic study in volunteers orally exposed to permethrin and cypermethrin (Ratelle et al., 2015a,b). Following lambda-cyhalothrin dosing as well as permethrin and cypermethrin exposure, kinetic profiles of the assessed metabolites evolved in parallel. In Ratelle et al. (2015a, b), average absorption and elimination half-lives of *cis*- and *trans*-3-(2,2 -dichlorovinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropane-1-carboxylic acids (*cis*- and *trans*-DCCA) and 3-PBA metabolites were calculated from plasma and urinary time courses to be \approx 3 h and 4.5-7 h after oral dosing of permethrin. Corresponding mean values after cypermethrin dosing were 3-4 and 5-9 h, respectively.

As observed following permethrin and cypermethrin dosing in volunteers, similar relatively small volume of distribution (V_d) were calculated for CFMP and 3-PBA, suggesting that these metabolites remain in large part in the circulation once formed. Furthermore, on average, molar percent of the administered dose excreted in total as CFMP and 3-PBA in the urine of al., 2015b). The percentages are also in the same order of magnitude as those obtained following ingestion of permethrin (36% of total administered dose recovered as DCCA and 47% as 3-PBA) (Ratelle et al., 2015a), although 3-PBA excretion appears slightly higher for this type I pyrethroid without a cyano moiety at the alpha-position of the cyclopropane carboxylate structure. It remains to be verified if this is simply due to between-subject variability and the small sample size of the different volunteer studies.

Other detailed kinetic data for lambda-cyhalothrin are essentially limited to animal studies. Anadón et al. (2006) determined the plasma and tissue time courses of the parent

compound lambda-cyhalothrin after an intravenous and oral administration in rats (3 and 20 mg/kg bw, respectively). These authors reported a bioavailability (mean \pm SD) of lambda-cyhalothrin after oral dosing of 67 ± 9 %. Peak levels in plasma were reached at the same time as those observed in volunteers (on average (\pm SD) at 2.7 ± 0.4 h) and mean (\pm SD) apparent elimination half-life calculated from plasma time course after intravenous injection was 7.5 ± 0.99 h, which is close to the values estimated in volunteers. It is to be noted that the doses administered were very high in this animal study.

Chester et al. (1992) reported the average time course of lambda-cyhalothrin metabolites in the urine of five spraymen during and after a spraying episode. An increase in urinary levels was observed during the spraying period and levels dropped rapidly following the end of exposure, but the number of data points was too low to derive an elimination half-life.

From a biomonitoring perspective, CFMP and 3-PBA metabolites were confirmed to be major metabolites of lambda-cyhalothrin and exhibited similar kinetics with short half-lives. They both appear as useful biomarkers of exposure to lambda-cyhalothrin in humans. More generally, this volunteer study showed that the kinetic time courses of the key biomarkers of exposure to lambda-cyhalothrin were very similar to those of permethrin and cypermethrin, suggesting that all these biomarkers of exposure could be suitable to assess overall exposure to pyrethroids. The rapid clearance of the metabolites suggests that a steady-state equilibrium should be rapidly reached in repeatedly exposed individuals, such that there should be little day-to-day variations in minimum and maximum values for individuals exposed day-to-day to relatively constant (same value range) doses. The data collected in this study can be used to adapt a toxicokinetic model developed for permethrin and cypermethrin (Côté et al., 2014, 2017), which would allow dose reconstruction of lambda-cyhalothrin from biomonitoring data (urinary CFMP and 3-PBA metabolites) in exposed individuals.

6. Conflict of interest statement

The authors declare that there are no conflicts of interest.

7. Acknowledgements

Authors wish to thank all the participants, the nurse and the personnel for technical assistance. The study was funded by the *Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail du Québec* (IRSST). Rania Khemiri received a scholarship from the IRSST for this research.

8. REFERENCES

- Abe, J., Nagahori, H., Tarui, H., Tomigahara, Y., Isobe, N, 2017. Metabolism of metofluthrin in rats: I. Identification of metabolites. *Xenobiotica* 5, 1-13.
- Anadón, A., Martínez, M., Martínez, M.A., Díaz, M.J., Martínez-Larrañaga, M.R., 2006. Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicol. Lett.* 165, 47–56.
- Ansari, R.W., Shukla, R.K., Yadav, R.S., Khann, V.K., 2012. Involvement of dopaminergic and serotonergic systems in the neurobehavioral toxicity of lambda-cyhalothrin in developing rats. *Toxicol. lett.* 211, 1-9.
- Chester, G., Sabapathy, N.N., Woollen, B.H., 1992. Exposure and health assessment during application of lambda-cyhalothrin for malaria vector control in Pakistan. *Bull. WHO* 70(5), 615-619.
- Choi, J., Rose, R.L., Hodgson, E., 2002. In vitro human metabolism of permethrin: the role of human alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Pest. Biochem. Physiol* 73, 117–128.
- Côté, J., Carrier, G., Bonvalot, Y., Lapointe, C., Woollen, B., Fuhr, U., Tomalik-Scharte, D., Wachall, B., Bouchard, M., 2014. A novel toxicokinetic model of cypermethrin and permethrin and their metabolites in humans for dose reconstruction from biomarker data. *PLoS One* 9(2): e88517. doi : 10.1371/journal.pone.0088517.
- Côté, J., Bouchard, M., 2017. Dose reconstruction in workers exposed to permethrin and cypermethrin and determination of biological reference values using a toxicokinetic model. *J. Exp. Sci. Environ. Epidemiol.* (accepted).
- Curwin, B.D., Hein, M.J., Sanderson, W.T., Nishioka, M.G., Reynolds, S.J., Ward, E.M., Alavanja, M.C., 2005. Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes. *J. Occup. Environ. Hyg.* 2, 357-367.

Ferland, S., Côté, J., Ratelle, M., Thuot, R., Bouchard, M., 2015. Detailed time profiles of biomarkers of exposure in workers exposed to permethrin in a corn production farm in Quebec, Canada. *Ann. Occup. Hyg.* 59 (9), 1152-1167.

Fetoui, H., Gdoura, R., 2012. Synthetic pyrethroid induces lipid and protein oxidative damage and glutathione depletion in cerebellum of adult rats: ameliorative effect of vitamin C. *Human Exp. Toxicol.* 31(11), 1151-1160.

Field, L.M., Emyr Davies, T. G., O'Reilly, A.O., Williamson, M.S., Wallace, B.A., 2017. Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *Eur. Biophys. J.* DOI 10.1007/s00249-016-1195-1.

Fortin, M. C., Bouchard, M. et Carrier, G., 2009. Comparison of the urinary excretion of biomarkers of exposure to pyrethroids and pyrethrins between residents of urban and rural areas of the province of Quebec, Canada. *Rev. Epidemiol. Public Health*, 57(6), 395-401.

Gueguen, Y., Mouzat, K., Ferrari, L., Tissandie, E., Lobaccaro, J.M.A., Batt, A.-M., Paquet, F., Voisin, P., Aigueperse, J., Gourmelon, P., Souidi, M., 2006. Cytochromes P450 : xenobiotic metabolism, regulation and clinical importance. *Ann. Biol. Clin.* 64 (6), 535–548.

HSE, 2007. Inadvertent ingestion exposure in the workplace. Institute for Occupational Medicine, Health and Safety Executive (HSE), Research Park North, Riccarton, Edinburgh, 96 pp.

Jurewicz, J., Radwan, M., Sobala, W., Radwan, P., Jakubowski, L., 2016. Exposure to widespread environmental endocrine disrupting chemicals and human sperm sex ratio. *Environ. Pollut.* 213, 732-740.

Kaneko, H., 2010. Pyrethroid chemistry and metabolism. In: Krieger, R. (Ed.), *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, pp. 1635–1663.

Kaneko, H., Miyamoto, J., 2001. Pyrethroid Chemistry and Metabolism. Handbook of Pesticide Toxicology, vol. 2. , pp. 1263–1288 (Chapter 58).

Mikata, K., Isobe, N., Kaneko, H., 2012. Biotransformation and enzymatic reactions of synthetic pyrethroids in mammals. Top Curr. Chem. 314, 113-135.

Narahashi, T., Frey, J.M., Ginsburg, K.S., Roy, M.L., 1992. Sodium and GABA-activated channels as the targets of pyrethroids and cyclodienes. Toxicol. Lett. 64-65, 429-436.

Narahashi, T., Zhao, X., Ikeda, T., Nagata, K., Yeh, J.Z., 2007. Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. Hum. Exp. Toxicol. 26(4), 361-266.

Nasuti, C., Cantalamessa, F., Falcioni, G., Gabbianelli, R., 2003. Different effects of Type I and Type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. Toxicology 191(2-3), 233-44.

Ratelle, M., Côté, J., Bouchard, M., 2015a. Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers. Toxicol. Lett. 232(2), 369-375.

Ratelle, M., Côté, J., Bouchard, M., 2015b. Time profiles and toxicokinetic parameters of key biomarkers of exposure to cypermethrin in orally exposed volunteers compared with previously available kinetic data following permethrin exposure. J. Appl. Toxicol. 35(12), 1586-1593.

Ratelle, M., Côté, J., Bouchard, M., 2016. Time courses and variability of pyrethroid biomarkers of exposure in a group of agricultural workers in Quebec, Canada. Int. Arch. Occup. Environ. Health 89(5), 767-783.

Renwick, A.G., 2008. Toxicokinetics, In: Hayes, A.W. (Ed.), Principles and Methods of Toxicology. Fifth ed. Informa Health Care, New York, pp. 179–230.

Righi, D.A., Xavier, F.G., Neto, J., 2009. Effects of type II pyrethroid cyhalothrin on rat innate immunity: A cytometric study. *Int. Immunopharmacol.* 9, 148-152.

Saillenfait, A. M., Ndiaye, D., Sabate, J. P., 2015. Pyrethroids: exposure and health effects - an update. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 218(3), 281-292.

Schettgen, T., Heudorf, U., Drexler, H., Angerer, J., 2002. Pyrethroid exposure of the general population—is this due to diet? *Toxicol. Lett.* 134, 141–145.

Tornero-Velez, R., Davis, J., Scollon, E.J., Starr, J.M., Setzer, R.W., 2012. A Pharmacokinetic model of cis- and trans-permethrin disposition in rats and humans with aggregate exposure application. *Toxicol. Sci.* 130(1), 33–47.

U.S. EPA, 2004. Lambda-cyhalothrin and an isomer Gamma-cylalothrin; Tolerances for residues. U.S. Environmental Protection Agency. *Federal Register* 69(68), 18480-18489.

Wang, X., Martínez, M.A., Dai, M., Chen, D., Ares, I., Romero, A., Castellano, V., Martínez, M., Rodríguez, J.L., Martínez-Larrañaga, M.R., Anadón, A., Yuan, Z., 2016. Permethrin-induced oxidative stress and toxicity and metabolism. A review. *Environ. Res.* 149, 86-104.

Watkins, D.J., Fortenberry, G.Z., Sánchez, B.N., Barr, D.B., Panuwet, P., Schnaas, L., Osorio-Valencia, E., Solano-González, M., Ettinger, A.S., Hernández-Ávila, M., Hu, H., Téllez-Rojo, M.M., Meeker, J.D., 2016. Urinary 3-phenoxybenzoic acid (3 -PBA) levels among pregnant women in Mexico City: Distribution and relationships with child neurodevelopment. *Environ. Res.* 147, 307-313.

Yousef, M., 2010. Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Fd Chem. Toxicol.* 48, 1152-1159.

Table 1 Mean (\pm SD) time to peak levels, first-order apparent absorption and elimination half-lives and excretion fraction derived from individual time courses of CFMP and 3-PBA in plasma and urine of volunteers following ingestion of 0.025 mg kg⁻¹ bw of lambda-cyhalothrin (n = 7).

Mean \pm SD ^a (n = 7)				
	CFMP		3-PBA	
	Plasma	Urine	Plasma	Urine
Time-to-peak levels (h)	3.1 \pm 1.2 ^b	5.6 \pm 2.1	4.0 \pm 1.15 ^b	6.4 \pm 2.7
Apparent absorption half-life (h)	2.0 \pm 1.9	2.7 \pm 2.1	3.0 \pm 1.9	2.6 \pm 2.2
Apparent elimination half-life (h)	5.3 \pm 1.6	4.2 \pm 1.5	6.4 \pm 1.3	5.9 \pm 1.4
Excreted fraction (molar % of total dose) ^c		21.3 \pm 8.9		30.4 \pm 9.4

^a Represents mean \pm SD values of kinetic parameters derived from individual time course data.

^b Mean time-to-peak levels (\pm SD) were calculated from peak values observed for each individual whereas Figure 1A presents mean time courses of the different metabolites and shows that mean peak concentrations were reached at \approx 3 h for CFMP, and at \approx 4 h for 3-PBA.

^c Represents the molar percentage of total administered dose of lambda-cyhalothrin recovered in urine as either CFMP and 3-PBA.

Table 2 Toxicokinetic parameters calculated from plasma concentration-time profiles of CFMP and 3-PBA in volunteers following ingestion of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 7).

Toxicokinetic parameters		Mean \pm SD (n = 7)	
		CFMP	3-PBA
AUC		8.8 \pm 2.6	42.0 \pm 12.7
[(nmol x h /l)/kg]			
AUMC		75.9 \pm 24.0	511 \pm 181
[(nmol x h ² /l)/ kg]			
MRT		8.9 \pm 2.4	12.2 \pm 2.3
(h)			
CL	Lower bound estimate ^a	1.5 \pm 0.9	0.4 \pm 0.2
(l/h)	Upper bound estimate ^b	6.8 \pm 2.1	1.5 \pm 0.5
V _d	Lower bound estimate ^a	13.9 \pm 8.6	5.3 \pm 2.5
(l)	Upper bound estimate ^b	62.3 \pm 30.1	17.7 \pm 6.8

^a Upper bound estimates of clearance (CL) and volume of distribution (V_d) of the metabolites in plasma were calculated considering that the absorbed dose is equal to the exposure dose (*i.e.*, absorption fraction of 1).

^b Lower bound estimates of clearance (CL) and volume of distribution (V_d) of the metabolites in plasma were calculated considering that the absorbed dose corresponds to total amounts recovered in urine.

Captions to figures

Figure 1. Time courses of CFMP and 3-PBA concentrations in the plasma of volunteers (pmol/ml/kg bw) following a single oral administration of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (mean \pm SD) (n = 7) (A) or 0.0025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 1) (B). Symbols of Fig. 1A represent mean values and vertical bars are standard deviations.

Figure 2. Time courses of CFMP and 3-PBA excretion rate in the urine (pmol/h/kg bw) of volunteers following a single oral administration of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (mean \pm SD) (n = 7) (A) or 0.0025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 1) (B). Symbols of Fig. 2A represent mean values and vertical bars are standard deviations.

Figure 3. Time courses of CFMP and 3-PBA cumulative excretion (as a molar % of administered dose) in the urine of volunteers following a single oral administration of 0.025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (mean \pm SD) (n = 7) (A) or 0.0025 mg/kg bw of lambda-cyhalothrin (n = 1) (B). Symbols of Fig. 3A represent mean values and vertical bars are standard deviations.

Fig. 1

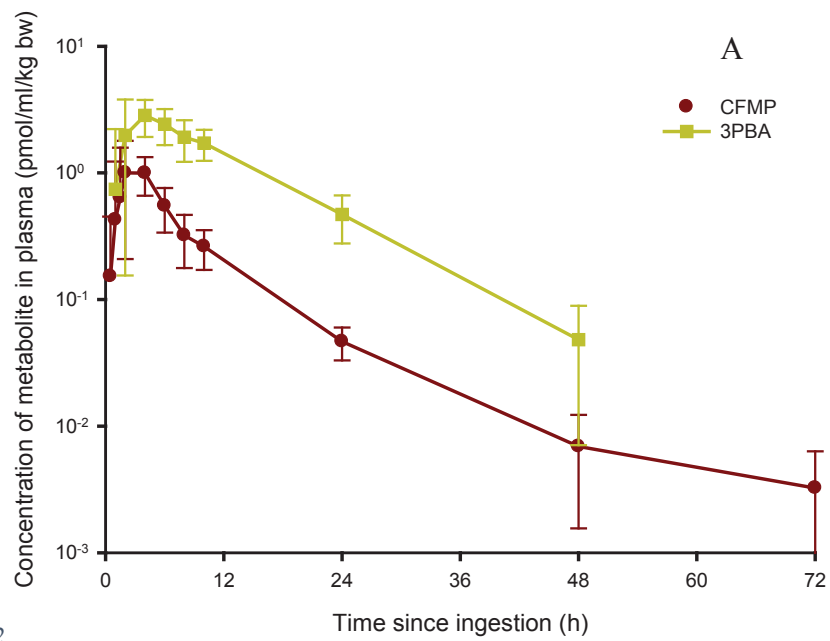


Figure 2

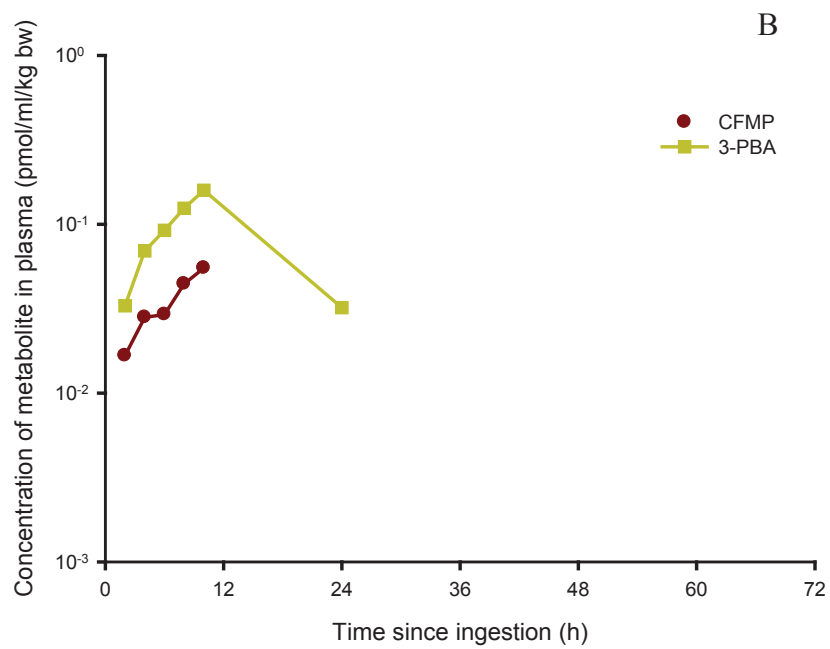


Fig. 2

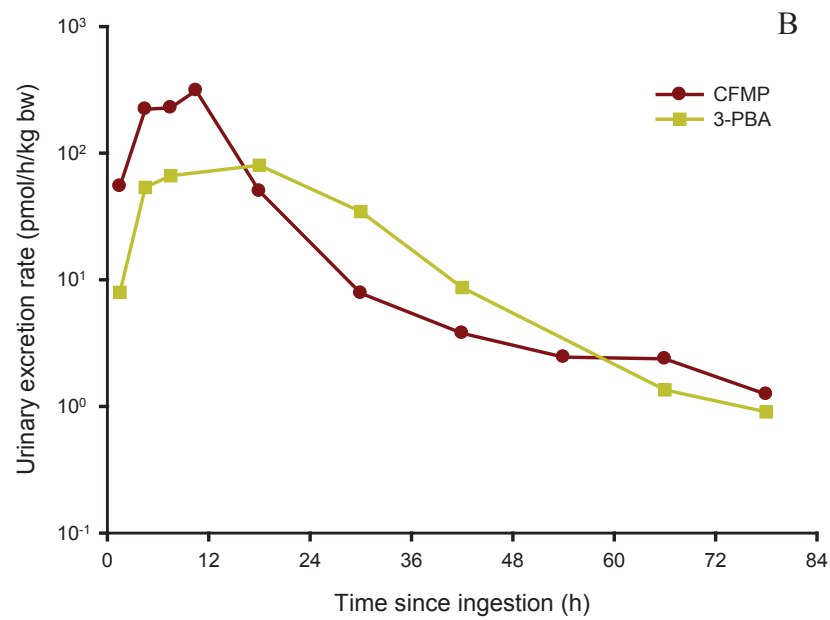
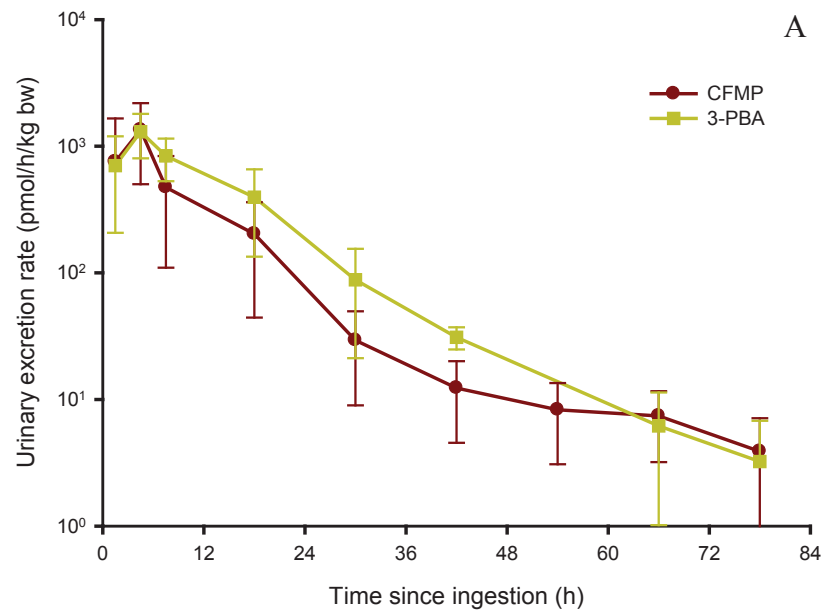
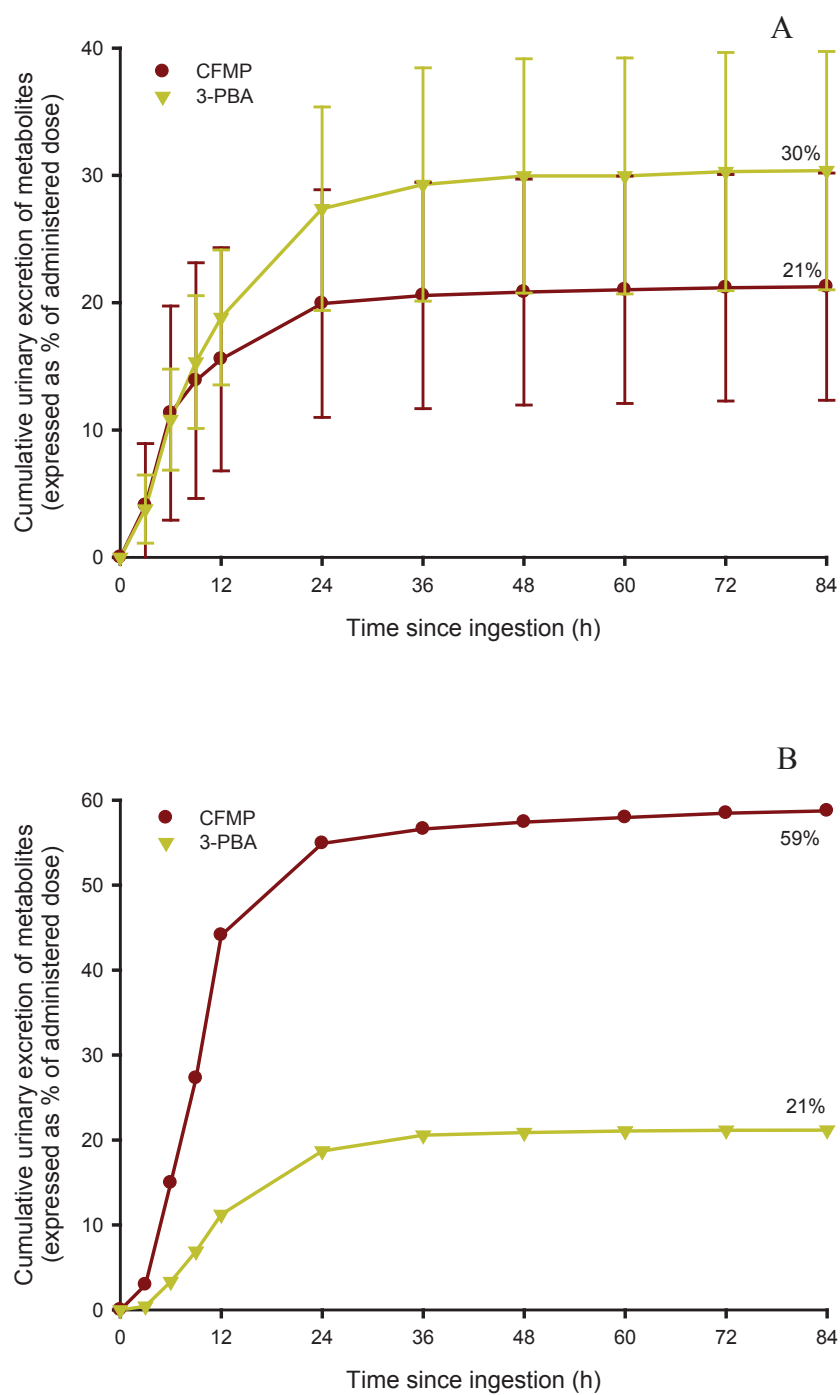


Fig. 3



Discussion générale

IV. DISCUSSION GÉNÉRALE

1. ÉVALUATION DE L'APPROCHE UTILISÉE ET CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES NOUVELLES

Ce travail présente la première étude sur la cinétique plasmatique et urinaire des métabolites de lambda-cyhalothrine en conditions contrôlées chez les volontaires exposés de façon orale à une faible dose aiguë de lambda-cyhalothrine. Cette étude cinétique contrôlée a mené à une meilleure compréhension de la cinétique des biomarqueurs d'exposition d'intérêt, le CFMP et le 3 -PBA. Les résultats ont montré une absorption et une clairance rapide de la lambda-cyhalothrine après exposition par voie orale. L'élimination des métabolites de la lambda-cyhalothrine était presque complète après 72 h. Par ailleurs, les données qui découlent de notre étude montrent que le CFMP et le 3 -PBA sont des biomarqueurs d'exposition majeurs de la lambda-cyhalothrine suivant une exposition orale.

Chester et al. (1992) avaient étudié le profil temporel des métabolites de la lambda-cyhalothrine chez des travailleurs agricoles à partir de collectes urinaires sériées. Cette étude est par contre une des seules disponibles sur la biosurveillance de l'exposition à la lambda-cyhalothrine en milieu de travail et ayant recours à des collectes sériées. Les études disponibles sur les biomarqueurs d'exposition aux pyréthrinoïdes ont recours en général à des mesures urinaires ponctuelles, ce qui ne permet pas de dresser un profil d'exposition fidèle chez les travailleurs, d'où l'importance de l'approche utilisée dans notre étude.

2. COMPARAISON DES DONNÉES AVEC D'AUTRES ÉTUDES

Selon les données disponibles dans la littérature sur la cinétique des métabolites de pyréthrinoïdes chez des volontaires exposés par voie orale, les profils plasmatiques et urinaires des métabolites de la lambda-cyhalothrine, et donc les demi-vies d'absorption et d'élimination moyennes du CFMP et du 3-PBA, étaient du même ordre de grandeur que

ceux d'autres métabolites de pyréthrinoïdes, dont que la perméthrine et la cyperméthrine (Ratelle et al., 2015).

Les seules données animales chez des rats exposés à la lambda-cyhalothrine par voie orale et intraveineuse ont documenté uniquement la cinétique du composé parent. En effet, Anadon et al. (2006) ont mesuré les concentrations du produit mère, la lambda-cyhalothrine dans le plasma et tissus de rats exposés par voie orale à une dose de 20 mg/kg pc et à une dose de 3 mg/kg pc par voie intraveineuse. Le temps requis pour atteindre la concentration maximale était similaire à celui des volontaires exposés à la lambda-cyhalothrine par voie orale (2.7 ± 0.4 h). De plus, les demi-vies d'élimination moyennes (\pm SD) du composé parent rapportées chez l'animal, de 7.5 ± 0.99 h étaient très proches de celles observées pour les métabolites chez les volontaires.

Par ailleurs, afin de déterminer la cinétique de la lambda-cyhalothrine dans le cadre d'une exposition professionnelle, Chester et al. (1992) a rapporté les profils cinétiques des métabolites urinaires chez 21 travailleurs agricoles dont leurs tâches principales étaient la pulvérisation de lambda-cyhalothrine. Il a été estimé que la quantité absorbée en moyenne par jour était inférieure à 1 µg/jour chez un travailleur ayant un poids de 60 kg. Chez ce groupe de travailleurs, une augmentation des concentrations de métabolites urinaires a été observée durant la période de pulvérisation, suivie d'une diminution rapide après la fin de l'exposition. Toutefois, le nombre d'échantillons collectés après l'atteinte du pic d'excrétion était insuffisant pour définir une demi-vie d'élimination. Il est important, dans le cadre de suivis individuels des travailleurs agricoles exposés d'une manière chronique aux pesticides d'effectuer des collectes urinaires sérieuses afin de dresser un profil réel de l'exposition.

Dans une autre étude sur l'exposition des travailleurs agricoles à la perméthrine, les demi-vies d'élimination des métabolites DCCA et 3 -PBA étaient 6,4 h et 8,7 h chez les applicateurs des pesticides (Ferland et al., 2015). En effet, les chercheurs ont tenté de dresser un profil d'exposition des travailleurs en fonction des tâches de travail (application,

supervision et cueillette) à partir des profils temporels des biomarqueurs d'exposition de la perméthrine.

3. CONTRIBUTION DE CETTE ÉTUDE POUR LA VALIDATION DE BIOMARQUEURS D'EXPOSITION À LA LAMBDA-CYHALOTHRINE CHEZ L'HUMAIN

La cinétique des métabolites de la lambda-cyhalothrine chez les volontaires exposés dans des conditions contrôlées par voie orale a permis de confirmer que le CFMP et 3-PBA étaient des métabolites majeurs de ce pyréthrianoïde et que ces deux métabolites présentaient des profils cinétiques similaires avec de courtes demi-vies. Ils apparaissent donc comme deux biomarqueurs d'exposition utiles pour évaluer l'exposition récente à la lambda-cyhalothrine chez l'humain. La méthode actuelle de mesure des métabolites de la lambda-cyhalothrine lors du volet oral est optimisée afin de permettre d'effectuer des analyses de faibles niveaux chez les volontaires exposés à la RfD ou bien dans la population générale dont la source principale de l'exposition est l'alimentation. La limite de détection (LOD) des métabolites de la lambda-cyhalothrine étaient de l'ordre de 0,4 pmol/ml d'urine (0,09-0,1 µg/l) et de 1 pmol/ml de plasma (0,2 µg/l).

Les données cinétiques ont montré que le pic d'excrétion urinaire était atteint en moyenne trois heures après l'ingestion. Ces résultats suggèrent que, pour un individu de la population générale exposé à des résidus de pyréthrianoïdes par l'alimentation ou encore un travailleur exposé par inadvertance par voie orale suite à un comportement main-bouche, le pic d'excrétion devrait être atteint environ 3 h après la consommation d'aliments contaminés ou encore 3 h après la fin d'un quart de travail (Côté et al., 2017 ; HSE 2007). Pour un travailleur exposé par inhalation, où la vitesse d'absorption est même plus rapide qu'après ingestion (Côté et al., 2014 ; 2017), le pic d'excrétion devrait être atteint en moins de 3 h suivant la fin d'un quart de travail.

Pour une exposition par voie cutanée chez les travailleurs, la vitesse d'absorption serait sûrement plus lente (Côté et al., 2014; Woollen et al., 1992). De plus, les demi-vies

d'élimination des métabolites dans le plasma et l'urine, de l'ordre de 7 h en moyenne, indiquent qu'entre la fin d'une journée de travail et le début de la journée de travail suivante, un travailleur n'a pas le temps d'éliminer la dose de la journée précédente. Il devrait donc, au cours d'une semaine de travail, y avoir une augmentation des pics et des creux d'excrétion urinaire (urines du matin et urines de fin de quart de travail ou fin de journée de travail) avec un niveau stationnaire atteint après 3-5 jours d'exposition continue. Au retour d'une fin de semaine de congé, les concentrations urinaires devraient retourner au niveau de base.

4. PERSPECTIVES DE RECHERCHE

4.1. Étude de l'exposition par voie cutanée

Une voie importante d'exposition aux pyréthrinoïdes chez les travailleurs agricoles est considérée être la voie cutanée (Machera et al., 2003). Il est important de compléter les données provenant de la présente étude par un volet cutané afin de documenter la cinétique de ses deux biomarqueurs d'exposition et de présenter des points de similitude et de différences dans les paramètres toxicologiques.

4.2. Biosurveillance chez les travailleurs agricoles

Selon les études d'évaluation de l'exposition aux insecticides pyréthrinoïdes chez les travailleurs agricoles (Ferland et al., 2015; Ratelle et al., 2016), la lambda-cyhalothrine (Matador®) est une substance active qui commencent à remplacer progressivement la perméthrine et la cyperméthrine. Or, il n'existe aucune publication sur l'exposition professionnelle à la lambda-cyhalothrine au Québec. Il est important de documenter l'exposition des travailleurs agricoles à cette nouvelle substance active largement utilisée dans le secteur agricole québécois.

Par ailleurs, selon Ferland et al. (2014), les applicateurs semblent effectuer les tâches agricoles les exposant le plus aux pesticides. Une étude sur le terrain avec un choix de site

représentatif de l'exposition à la lambda-cyhalothrine est nécessaire pour approfondir les connaissances en termes de surveillance biologique de l'exposition chez les travailleurs agricoles. De plus, le lien entre les pratiques de travail ainsi que les conditions d'hygiène en milieu de travail et l'exposition est un volet à développer davantage dans les futures études.

4.3. Modélisation des données toxicocinétiques

Un modèle toxicocinétique a été développé à partir de données cinétiques sur les métabolites de la perméthrine et cyperméthrine afin de reconstruire les doses absorbées et prédire les voies principales d'exposition chez des travailleurs agricoles du Québec (Côté et al., 2014). Les données provenant de notre étude chez des volontaires peuvent ainsi être utilisées afin d'adapter le modèle toxicocinétique de Côté et al. (2014) pour reconstruire les doses absorbées chez les travailleurs exposés à lambda-cyhalothrine.

Par ailleurs, il est important de vérifier la possibilité de développer un modèle toxicocinétique générique pour l'ensemble des pyréthrinoïdes ou des groupes de pyréthrinoïdes. La reconstruction de l'exposition peut-être réalisée par la modélisation des données cinétiques chez les volontaires ou bien dans la population en fonction du scénario d'exposition, unique, combiné (exposition multivoie) ou bien répétée (cas de l'exposition de la population via l'alimentation, ou bien des travailleurs agricoles en fonction de leurs horaires de travail). La modélisation toxicocinétique pourrait être utilisée pour dériver des valeurs de référence biologiques correspondant à des niveaux urinaires de biomarqueurs d'exposition à ne pas dépasser pour prévenir les effets sur la santé. Cela pourrait être réalisé avec la lambda-cyhalothrine si on établit des niveaux urinaires de la CFMP et 3 -PBA qui sont associés à la dose de référence établie par les organismes reconnus, tels que le U.S. *Environmental Protection Agency* (U.S. EPA.).

V. CONCLUSION

En conclusion, ce projet de recherche a permis de dresser la toxicocinétique des biomarqueurs d'exposition d'intérêt de la lambda-cyhalothrine en conditions contrôlées chez les volontaires, afin de caractériser l'exposition aux pesticides pyréthrinoïdes. Les métabolites 3-PBA et CFMP se sont avérés de bons biomarqueurs d'exposition à la lambda-cyhalothrine. Cette étude constitue une base pour documenter le suivi temporel des biomarqueurs d'exposition à la lambda-cyhalothrine chez l'humain afin de contribuer à mieux interpréter les données de la surveillance biologique de l'exposition en particulier chez les travailleurs agricoles.

VI. RÉFÉRENCES

- Akhtar, N., Kayani, S. A., Ahmad, M. M. et Shahab, M. (1996). Insecticide-induced changes in secretory activity of the thyroid gland in rats. *J Appl Toxicol*, 16(5), 397-400. doi: 10.1002/(sici)1099-1263(199609)16:5<397::aid-jat362>3.0.co;2-y
- Anadon, A., Martinez, M., Martinez, M. A., Diaz, M. J. et Martinez-Larranaga, M. R. (2006). Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicol Lett*, 165(1), 47-56. doi: 10.1016/j.toxlet.2006.01.014
- Anadon, A., Martinez, M. A., Martinez, M., Castellano, V., Ares, I., Romero, A., . . . Martinez-Larranaga, M. R. (2013). Differential induction of cytochrome P450 isoforms and peroxisomal proliferation by cyfluthrin in male Wistar rats. *Toxicol Lett*, 220(2), 135-142. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.04.015
- Anadon, A., Martinez-Larranaga, M., Diaz, M. et Bringas, P. (1991). Toxicokinetics of permethrin in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 110(1), 1-8.
- Ansari, R. W., Shukla, R. K., Yadav, R. S., Seth, K., Pant, A. B., Singh, D., . . . Khanna, V. K. (2012). Involvement of dopaminergic and serotonergic systems in the neurobehavioral toxicity of lambda-cyhalothrin in developing rats. *Toxicol Lett*, 211(1), 1-9. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.02.012
- Aouey, B., Derbali, M., Chtourou, Y., Bouchard, M., Khabir, A. et Fetoui, H. (2017). Pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin and its metabolites induce liver injury through the activation of oxidative stress and proinflammatory gene expression in rats following acute and subchronic exposure. *Environ Sci Pollut Res Int*. doi: 10.1007/s11356-016-8323-4
- Appenzeller, B. M., Hardy, E. M., Grova, N., Chata, C., Fays, F., Briand, O., . . . Duca, R. C. (2016). Hair analysis for the biomonitoring of pesticide exposure: comparison with blood and urine in a rat model. *Arch Toxicol*. doi: 10.1007/s00204-016-1910-9
- Appenzeller, B. M. et Tsatsakis, A. M. (2012). Hair analysis for biomonitoring of environmental and occupational exposure to organic pollutants: state of the art,

- critical review and future needs. *Toxicol Lett*, 210(2), 119-140. doi: 10.1016/j.toxlet.2011.10.021
- Barr, D. B., Olsson, A. O., Wong, L. Y., Udunka, S., Baker, S. E., Whitehead, R. D., . . . Needham, L. L. (2010). Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environ Health Perspect*, 118(6), 742-748. doi: 10.1289/ehp.0901275
- Barr, D. B., Wilder, L. C., Caudill, S. P., Gonzalez, A. J., Needham, L. L. et Pirkle, J. L. (2005). Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect*, 113(2), 192-200.
- Basir, A., Khan, A., Mustafa, R., Khan, M. Z., Rizvi, F., Mahmood, F. et Yousaf, A. (2011). Toxicopathological effects of lambda-cyhalothrin in female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Hum Exp Toxicol*, 30(7), 591-602. doi: 10.1177/0960327110376550
- Bhoopendra, K. et Nitesh, K. (2014). Immunotoxicity of Lambda-Cyhalothrin in Wistar Albino Rats. *Int. J. Toxicol. Pharmacol. Res.*, 6, 47-56.
- Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T. et Vale, J. A. (2005). Poisoning due to pyrethroids. *Toxicol Rev*, 24(2), 93-106.
- CDC. (2009). Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta, GA: CDC: 2009.
- Chalubinski, M. et Kowalski, M. L. (2006). Endocrine disrupters--potential modulators of the immune system and allergic response. *Allergy*, 61(11), 1326-1335. doi: 10.1111/j.1398-9995.2006.01135.x
- Chen, H., Xiao, J., Hu, G., Zhou, J., Xiao, H. et Wang, X. (2002). Estrogenicity of organophosphorus and pyrethroid pesticides. *J Toxicol Environ Health A*, 65(19), 1419-1435. doi: 10.1080/00984100290071243
- Chester, G., Sabapathy, N. N. et Woollen, B. H. (1992). Exposure and health assessment during application of lambda-cyhalothrin for malaria vector control in Pakistan. *Bull World Health Organ*, 70(5), 615-619.
- Côté, J., Bonvalot, Y., Carrier, G., Lapointe, C., Fuhr, U., Tomalik-Scharte, D., . . . Bouchard, M. (2014). A novel toxicokinetic modeling of cypermethrin and

- permethrin and their metabolites in humans for dose reconstruction from biomarker data. *PloS one*, 9(2), e88517.
- Couture, C., Fortin, M. C., Carrier, G., Dumas, P., Tremblay, C. et Bouchard, M. (2009). Assessment of exposure to pyrethroids and pyrethrins in a rural population of the Monteregie area, Quebec, Canada. *J Occup Environ Hyg*, 6(6), 341-352. doi: 10.1080/15459620902850907
- Donadio, C., Lucchesi, A., Tramonti, G. et Bianchi, C. (1997). Creatinine clearance predicted from body cell mass is a good indicator of renal function. *Kidney Int Suppl*, 63, S166-168.
- Eadsforth, C. V. et Baldwin, M. K. (1983). Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide, cypermethrin. *Xenobiotica*, 13(2), 67-72.
- Eadsforth, C. V., Bragt, P. C. et van Sittert, N. J. (1988). Human dose-excretion studies with pyrethroid insecticides cypermethrin and alphacypermethrin: relevance for biological monitoring. *Xenobiotica*, 18(5), 603-614. doi: 10.3109/00498258809041697
- Elliott, M. (1976). Properties and applications of pyrethroids. *Environ Health Perspect*, 14, 1-13.
- Esteban, M. et Castaño, A. (2009). Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review. *Environment international*, 35(2), 438-449.
- Ferland, S., Cote, J., Ratelle, M., Thuot, R. et Bouchard, M. (2015). Detailed Urinary Excretion Time Courses of Biomarkers of Exposure to Permethrin and Estimated Exposure in Workers of a Corn Production Farm in Quebec, Canada. *Ann Occup Hyg*, 59(9), 1152-1167. doi: 10.1093/annhyg/mev059
- Fetoui, H., Garoui el, M., Makni-Ayadi, F. et Zeghal, N. (2008). Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. *Environ Toxicol Pharmacol*, 26(2), 225-231. doi: 10.1016/j.etap.2008.04.002
- Fetoui, H., Garoui el, M. et Zeghal, N. (2009). Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol*, 61(3), 189-196. doi: 10.1016/j.etp.2008.08.002

- Field, L. M., Davies, T. E., O'Reilly, A. O., Williamson, M. S. et Wallace, B. (2017). Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *European Biophysics Journal*, 1-5.
- Fortin, M.-C., Bouchard, M., Carrier, G. et Dumas, P. (2008). Biological monitoring of exposure to pyrethrins and pyrethroids in a metropolitan population of the Province of Quebec, Canada. *Environmental research*, 107(3), 343-350.
- Fortin, M. C., Bouchard, M. et Carrier, G. (2009). [Comparison of the urinary excretion of biomarkers of exposure to pyrethroids and pyrethrins between residents of urban and rural areas of the province of Quebec, Canada]. *Rev Epidemiol Sante Publique*, 57(6), 395-401. doi: 10.1016/j.respe.2009.08.009
- Giray, B., Gurbay, A. et Hincal, F. (2001). Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol. *Toxicol Lett*, 118(3), 139-146.
- Haines, D. A. et Murray, J. (2012). Human biomonitoring of environmental chemicals—early results of the 2007–2009 Canadian Health Measures Survey for males and females. *International journal of hygiene and environmental health*, 215(2), 133-137.
- Hardt, J. et Angerer, J. (2003). Biological monitoring of workers after the application of insecticidal pyrethroids. *Int Arch Occup Environ Health*, 76(7), 492-498. doi: 10.1007/s00420-003-0451-8
- Hossain, M. M., Suzuki, T., Sato, I., Takewaki, T., Suzuki, K. et Kobayashi, H. (2005). Neuromechanical effects of pyrethroids, allethrin, cyhalothrin and deltamethrin on the cholinergic processes in rat brain. *Life sciences*, 77(7), 795-807.
- Hudson, N. L., Kasner, E. J., Beckman, J., Mehler, L., Schwartz, A., Higgins, S., . . . Calvert, G. M. (2014). Characteristics and magnitude of acute pesticide-related illnesses and injuries associated with pyrethrin and pyrethroid exposures--11 states, 2000-2008. *Am J Ind Med*, 57(1), 15-30. doi: 10.1002/ajim.22216
- Hughes, M. F. (2010). Percutaneous Penetration of Chemicals and Aging Skin (*Textbook of Aging Skin* (p. 771-780): Springer.
- Hughes, M. F., Ross, D. G., Starr, J. M., Scollon, E. J., Wolansky, M. J., Crofton, K. M. et DeVito, M. J. (2016). Environmentally relevant pyrethroid mixtures: A study on

- the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat. *Toxicology*, 359, 19-28.
- Hutson, D. H. et Roberts, T. R. (1999). *Metabolic pathways of agrochemicals:-Insecticides and fungicides*. Royal Society of Chemistry.
- Ihara, D., Fukuchi, M., Honma, D., Takasaki, I., Ishikawa, M., Tabuchi, A. et Tsuda, M. (2012). Deltamethrin, a type II pyrethroid insecticide, has neurotrophic effects on neurons with continuous activation of the Bdnf promoter. *Neuropharmacology*, 62(2), 1091-1098. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.10.023
- Ihara, D., Fukuchi, M., Takasaki, I., Honma, D., Tabuchi, A. et Tsuda, M. (2009). The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA expression induced by type II-pyrethroid insecticides. *Neuroscience Research*, 65, S70.
- Iyyadurai, R., Peter, J. V., Immanuel, S., Begum, A., Zachariah, A., Jasmine, S. et Abhilash, K. P. P. (2014). Organophosphate-pyrethroid combination pesticides may be associated with increased toxicity in human poisoning compared to either pesticide alone. *Clinical Toxicology*, 52(5), 538-541. doi: 10.3109/15563650.2014.909933
- Julien, R., Adamkiewicz, G., Levy, J. I., Bennett, D., Nishioka, M. et Spengler, J. D. (2008). Pesticide loadings of select organophosphate and pyrethroid pesticides in urban public housing. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 18(2), 167-174. doi: 10.1038/sj.jes.7500576
- Kadala, A., Charreton, M., Jakob, I., Cens, T., Rousset, M., Chahine, M., . . . Collet, C. (2014). Pyrethroids differentially alter voltage-gated sodium channels from the honeybee central olfactory neurons. *PLoS One*, 9(11), e112194. doi: 10.1371/journal.pone.0112194
- Kale, M., Rathore, N., John, S. et Bhatnagar, D. (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett*, 105(3), 197-205.
- Kaneko, H. (2010). Pyrethroids: mammalian metabolism and toxicity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 2786-2791.
- Kaneko, H. et Miyamoto, J. (2001). Pyrethroid chemistry and metabolism. *Handbook of pesticide toxicology*, 2, 1263-1288.

- Kilian, E., Delpont, R., Bornman, M. S. et de Jager, C. (2007). Simultaneous exposure to low concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane, deltamethrin, nonylphenol and phytoestrogens has negative effects on the reproductive parameters in male Sprague-Dawley rats. *Andrologia*, 39(4), 128-135. doi: 10.1111/j.1439-0272.2007.00777.x
- Kojima, H., Katsura, E., Takeuchi, S., Niiyama, K. et Kobayashi, K. (2004). Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using Chinese hamster ovary cells. *Environ Health Perspect*, 112(5), 524-531.
- Koureas, M., Tsakalof, A., Tsatsakis, A. et Hadjichristodoulou, C. (2012). Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicol Lett*, 210(2), 155-168. doi: 10.1016/j.toxlet.2011.10.007
- Kuhn, K., Wieseler, B., Leng, G. et Idel, H. (1999). Toxicokinetics of pyrethroids in humans: consequences for biological monitoring. *Bull Environ Contam Toxicol*, 62(2), 101-108.
- Leng, G., Kuhn, K. H. et Idel, H. (1996). Biological monitoring of pyrethroid metabolites in urine of pest control operators. *Toxicol Lett*, 88(1-3), 215-220.
- Leng, G., Leng, A., Kuhn, K. H., Lewalter, J. et Pauluhn, J. (1997). Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica*, 27(12), 1273-1283. doi: 10.1080/004982597239859
- Li, W., Morgan, M. K., Graham, S. E. et Starr, J. M. (2016). Measurement of pyrethroids and their environmental degradation products in fresh fruits and vegetables using a modification of the quick easy cheap effective rugged safe (QuEChERS) method. *Talanta*, 151, 42-50. doi: 10.1016/j.talanta.2016.01.009
- Lu, D., Wang, D., Feng, C., Jin, Y. e., Zhou, Z., Wu, C., . . . Wang, G. (2013). Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in textile workers, Eastern China. *Environment international*, 60, 137-144.
- Machera, K., Goumenou, M., Kapetanakis, E., Kalamarakis, A. et Glass, C. (2003). Determination of potential dermal and inhalation operator exposure to malathion in

- greenhouses with the whole body dosimetry method. *Annals of Occupational Hygiene*, 47(1), 61-70.
- Manna, S., Bhattacharyya, D., Mandal, T. K. et Das, S. (2004). Repeated dose toxicity of alfa-cypermethrin in rats. *J Vet Sci*, 5(3), 241-245.
- Margariti, M. G., Tsakalof, A. K. et Tsatsakis, A. M. (2007). Analytical methods of biological monitoring for exposure to pesticides: recent update. *Ther Drug Monit*, 29(2), 150-163. doi: 10.1097/FTD.0b013e31803d3509
- Matsuya, Y., Ihara, D., Fukuchi, M., Honma, D., Itoh, K., Tabuchi, A., . . . Tsuda, M. (2012). Synthesis and biological evaluation of pyrethroid insecticide-derivatives as a chemical inducer for Bdnf mRNA expression in neurons. *Bioorg Med Chem*, 20(8), 2564-2571. doi: 10.1016/j.bmc.2012.02.048
- Melnyk, L. J., McCombs, M., Brown, G. G., Raymer, J., Nishioka, M., Buehler, S., . . . Michael, L. C. (2012). Community duplicate diet methodology: a new tool for estimating dietary exposures to pesticides. *J Environ Monit*, 14(1), 85-93. doi: 10.1039/c1em10611b
- Michelangeli, F., Robson, M., East, J. et Lee, A. (1990). The conformation of pyrethroids bound to lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1028(1), 49-57.
- Mikata, K., Isobe, N. et Kaneko, H. (2011). Biotransformation and enzymatic reactions of synthetic pyrethroids in mammals (*Pyrethroids* (p. 113-135): Springer.
- Mohamed, M., Abdellatif, M., Sabar, A. et Elglammal, M. (2003). Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Eng J Ana*, 19, 78-83.
- Morgan, M. K., MacMillan, D. K., Zehr, D. et Sobus, J. R. (2016a). Pyrethroid insecticides and their environmental degradates in repeated duplicate-diet solid food samples of 50 adults. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*.
- Morgan, M. K., Sheldon, L. S., Croghan, C. W., Jones, P. A., Chuang, J. C. et Wilson, N. K. (2007). An observational study of 127 preschool children at their homes and daycare centers in Ohio: environmental pathways to cis- and trans-permethrin exposure. *Environ Res*, 104(2), 266-274. doi: 10.1016/j.envres.2006.11.011

- Morgan, M. K., Sobus, J. R., Barr, D. B., Croghan, C. W., Chen, F. L., Walker, R., . . . Clifton, M. S. (2016b). Temporal variability of pyrethroid metabolite levels in bedtime, morning, and 24-h urine samples for 50 adults in North Carolina. *Environ Res*, 144(Pt A), 81-91. doi: 10.1016/j.envres.2015.11.003
- Moser, V. C., Liu, Z., Schlosser, C., Spanogle, T. L., Chandrasekaran, A. et McDaniel, K. L. (2016). Locomotor activity and tissue levels following acute administration of lambda- and gamma-cyhalothrin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 313, 97-103. doi: 10.1016/j.taap.2016.10.020
- Muranli, F. D. (2013). Genotoxic and cytotoxic evaluation of pyrethroid insecticides lambda-cyhalothrin and alpha-cypermethrin on human blood lymphocyte culture. *Bull Environ Contam Toxicol*, 90(3), 357-363. doi: 10.1007/s00128-012-0909-z
- Naravaneni, R. et Jamil, K. (2005). Evaluation of cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on human lymphocytes. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 19(5), 304-310.
- NHANES, I. (2009). Fourth national report on human exposure to environmental chemicals. *Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta, Georgia.*
- Ntzani, E. E., Ntritsos, G., Chondrogiorgi, M., Evangelou, E. et Tzoulaki, I. (2013). Literature review on epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects. *EFSA Supporting Publications*, 10(10).
- OMS. (1990). Deltamethrin / published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization
- Pande, S., Saxena, P. N., Bhushan, B. et Saxena, N. (2014). Peripheral blood and bone marrow responses under stress of cypermethrin in albino rats. *Interdisciplinary toxicology*, 7(1), 33-40.
- Panuwet, P., Prapamontol, T., Chantara, S., Thavornnyuthikarn, P., Montesano, M. A., Whitehead, R. D. et Barr, D. B. (2008). Concentrations of urinary pesticide metabolites in small-scale farmers in Chiang Mai Province, Thailand. *Science of the total environment*, 407(1), 655-668.

- Pollak, J. K. et Harsas, W. (1982). Effects of organochlorine compounds on lipid catabolism of foetal rat liver mitochondria and microsomes. *Bull Environ Contam Toxicol*, 28(3), 313-318.
- Prasamthi, K., Muralidhara et Rajini, P. S. (2005). Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil. *Food Chem Toxicol*, 43(2), 299-306.
- Ratelle, M., Cote, J. et Bouchard, M. (2015). Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers. *Toxicol Lett*, 232(2), 369-375. doi: 10.1016/j.toxlet.2014.12.003
- Ratelle, M., Côté, J. et Bouchard, M. (2016). Time courses and variability of pyrethroid biomarkers of exposure in a group of agricultural workers in Quebec, Canada. *International archives of occupational and environmental health*, 89(5), 767-783.
- Rickard, J. et Brodie, M. (1985). Correlation of blood and brain levels of the neurotoxic pyrethroid deltamethrin with the onset of symptoms in rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 23(2), 143-156.
- Riederer, A. M., Bartell, S. M., Barr, D. B. et Ryan, P. B. (2008). Diet and nondiet predictors of urinary 3-phenoxybenzoic acid in NHANES 1999-2002. *Environ Health Perspect*, 116(8), 1015-1022. doi: 10.1289/ehp.11082
- Riederer, A. M., Hunter, R. E., Jr., Hayden, S. W. et Ryan, P. B. (2010). Pyrethroid and organophosphorus pesticides in composite diet samples from Atlanta, USA adults. *Environ Sci Technol*, 44(1), 483-490. doi: 10.1021/es902479h
- Righi, D. A. et Palermo-Neto, J. (2003). Behavioral effects of type II pyrethroid cyhalothrin in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 191(2), 167-176.
- Roca, M., Miralles-Marco, A., Ferre, J., Perez, R. et Yusa, V. (2014). Biomonitoring exposure assessment to contemporary pesticides in a school children population of Spain. *Environ Res*, 131, 77-85. doi: 10.1016/j.envres.2014.02.009
- Ross, M. K., Borazjani, A., Edwards, C. C. et Potter, P. M. (2006). Hydrolytic metabolism of pyrethroids by human and other mammalian carboxylesterases. *Biochemical pharmacology*, 71(5), 657-669.

- Saillenfait, A. M., Ndiaye, D. et Sabate, J. P. (2015). Pyrethroids: exposure and health effects--an update. *Int J Hyg Environ Health*, 218(3), 281-292. doi: 10.1016/j.ijheh.2015.01.002
- Sankar, P., Telang, A. G. et Manimaran, A. (2012). Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. *Exp Toxicol Pathol*, 64(5), 487-493. doi: 10.1016/j.etp.2010.11.003
- Scollon, E. J., Starr, J. M., Godin, S. J., DeVito, M. J. et Hughes, M. F. (2009). In vitro metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome p450 isoforms. *Drug Metabolism and Disposition*, 37(1), 221-228.
- Sinha, C., Seth, K., Islam, F., Chaturvedi, R. K., Shukla, S., Mathur, N., . . . Agrawal, A. K. (2006). Behavioral and neurochemical effects induced by pyrethroid-based mosquito repellent exposure in rat offsprings during prenatal and early postnatal period. *Neurotoxicol Teratol*, 28(4), 472-481. doi: 10.1016/j.ntt.2006.03.005
- Soderlund, D. M., Clark, J. M., Sheets, L. P., Mullin, L. S., Piccirillo, V. J., Sargent, D., . . . Weiner, M. L. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171(1), 3-59.
- Stajn, A., Zikic, R. V., Ognjanovic, B., Saicic, Z. S., Pavlovic, S. Z., Kostic, M. M. et Petrovic, V. M. (1997). Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 117(2), 167-172.
- Starr, J., Graham, S., Stout, D., 2nd, Andrews, K. et Nishioka, M. (2008). Pyrethroid pesticides and their metabolites in vacuum cleaner dust collected from homes and day-care centers. *Environ Res*, 108(3), 271-279. doi: 10.1016/j.envres.2008.07.022
- Takasaki, I., Oose, K., Otaki, Y., Ihara, D., Fukuchi, M., Tabuchi, A., . . . Tsuda, M. (2013). Type II pyrethroid deltamethrin produces antidepressant-like effects in mice. *Behav Brain Res*, 257, 182-188. doi: 10.1016/j.bbr.2013.09.044
- Tomalik-Scharte, D., Lazar, A., Meins, J., Bastian, B., Ihrig, M., Wachall, B., . . . Fuhr, U. (2005). Dermal absorption of permethrin following topical administration. *Eur J Clin Pharmacol*, 61(5-6), 399-404. doi: 10.1007/s00228-005-0932-7
- Tornero-Velez, R., Davis, J., Scollon, E., Starr, J. M., Setzer, R. W., Goldsmith, M., . . . DeVito, M. J. (2012). A pharmacokinetic model of cis-and trans-permethrin

- disposition in rats and humans with aggregate exposure application. *Toxicological Sciences*, kfs236.
- Trunnelle, K. J., Bennett, D. H., Tulve, N. S., Clifton, M. S., Davis, M. D., Calafat, A. M., . . . Hertz-Picciotto, I. (2014). Urinary pyrethroid and chlorpyrifos metabolite concentrations in Northern California families and their relationship to indoor residential insecticide levels, part of the Study of Use of Products and Exposure Related Behavior (SUPERB). *Environ Sci Technol*, 48(3), 1931-1939. doi: 10.1021/es403661a
- US-EPA. (2011). Pesticide Ecotoxicity Database.
- Verschoye, R. et Barnes, J. (1972). Toxicity of natural and synthetic pyrethrins to rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 2(3), 308-311.
- Wang, D., Kamijima, M., Imai, R., Suzuki, T., Kameda, Y., Asai, K., . . . Wakusawa, S. (2007). Biological monitoring of pyrethroid exposure of pest control workers in Japan. *J Occup Health*, 49(6), 509-514.
- Wang, S. Y. et Wang, G. K. (2003). Voltage-gated sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins. *Cell Signal*, 15(2), 151-159.
- Weiner, M. L., Nemec, M., Sheets, L., Sargent, D. et Breckenridge, C. (2009). Comparative functional observational battery study of twelve commercial pyrethroid insecticides in male rats following acute oral exposure. *Neurotoxicology*, 30, S1-S16.
- Wolansky, M., Gennings, C. et Crofton, K. (2006). Relative potencies for acute effects of pyrethroids on motor function in rats. *Toxicological Sciences*, 89(1), 271-277.
- Wolansky, M. et Tornero-Velez, R. (2013). Critical consideration of the multiplicity of experimental and organismic determinants of pyrethroid neurotoxicity: a proof of concept. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 16(8), 453-490.
- Woollen, B. H., Marsh, J. R., Laird, W. J. et Lesser, J. E. (1992). The metabolism of cypermethrin in man: differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration. *Xenobiotica*, 22(8), 983-991.
- Yusa, V., Millet, M., Coscolla, C., Pardo, O. et Roca, M. (2015). Occurrence of biomarkers of pesticide exposure in non-invasive human specimens. *Chemosphere*, 139, 91-108.

- Zhang, Q., Wang, C., Sun, L., Li, L. et Zhao, M. (2010). Cytotoxicity of lambda-cyhalothrin on the macrophage cell line RAW 264.7. *J Environ Sci (China)*, 22(3), 428-432.
- Zhao, M., Chen, F., Wang, C., Zhang, Q., Gan, J. et Liu, W. (2010). Integrative assessment of enantioselectivity in endocrine disruption and immunotoxicity of synthetic pyrethroids. *Environ Pollut*, 158(5), 1968-1973. doi: 10.1016/j.envpol.2009.10.027